

MARIA DO ROSÁRIO SANTOS FREIRE

**AVALIAÇÃO DA FOTOBIMODULAÇÃO A LASERS E LEDS NA
PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MUCOSITE
QUIMIOINDUZIDA - Estudo experimental em hamsters**



PROGRAMA INTEGRADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

Área de concentração:

Laser em Odontologia

Salvador – BA

2013

MARIA DO ROSÁRIO SANTOS FREIRE

**AVALIAÇÃO DA FOTOBIMODULAÇÃO A *LASERS* E LEDS NA
PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MUCOSITE
QUIMIOINDUZIDA - Estudo experimental em hamsters**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal da Bahia, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Odontologia com Área de Concentração em Laser em Odontologia.

Orientadoras: Profa. Dra. Viviane Almeida Sarmiento

Profa. Dra. Aparecida Maria Cordeiro Marques

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de
Saúde, SIBI - UFBA.

F866 Freire, Maria do Rosário Santos

Avaliação da fotobiomodulação a lasers e leds na prevenção e tratamento da mucosite quimioinduzida- estudo experimental em hamsters / Maria do Rosário Santos Freire. – Salvador, 2013.

128 f.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Viviane Almeida Sarmiento.

Co-orientadora: Prof^ª Dr^ª Aparecida Maria Cordeiro Marques

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Paraíba/
Universidade Federal da Bahia, 2013.

1. Laser. 2. LED. 3. Modelo Animal. 4. Mucosite Oral. 5. Oncologia. 6. Quimioterapia I. Sarmiento, Viviane Almeida. II. Marques, Aparecida Maria Cordeiro. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDU 621.375.8

MARIA DO ROSÁRIO SANTOS FREIRE

**AVALIAÇÃO DA FOTOBIMODULAÇÃO A LASERS E LEDS NA
PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MUCOSITE
QUIMIOINDUZIDA - Estudo experimental em hamsters**

Salvador, 11/09/2013

BANCA EXAMINADORA

**Profa. Dra. Viviane Almeida Sarmiento - Orientadora- Universidade Federal
da Bahia / Universidade Estadual de Feira de Santana**

**Profa. Dra. Aparecida Maria Cordeiro Marques - Coorientadora-
Universidade Federal da Bahia**

**Profa. Dra. Izabel Regina Fischer Rubira Bullen - Membro- Universidade
de São Paulo (Bauru)**

**Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro – Membro – Universidade
Federal de Pernambuco**

**Profa. Dra. Gyselle Cynthia Silva Meireles - Membro- Universidade
Estadual do Sudoeste da Bahia**

DEDICATÓRIA

Que todos os seres possam se beneficiar

Om Mani Padme Hum

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Viviane Almeida Sarmiento, minha gratidão e admiração sincera, especialmente por acreditar neste projeto e transmitir conhecimentos, dedicar seu tempo com generosidade e confiança em mim.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Aparecida Maria Cordeiro Marques, agradeço pela oportunidade e incentivo. Sempre disponível e tornando meu caminho mais alegre.

À Profa. Dra. Fabiane Almeida Sarmiento e Profa. Dra. Clarissa Araújo Gurgel Rocha, que generosamente participaram na análise histológica e imagens das amostras deste estudo.

Aos colegas do doutorado Fábio Colombo, Suzana Sampaio, Juliana Monteiro, Alberto Valença, Edival Magalhães, Maíra Costalino e Gilberth. Agradeço por conhecê-los e pelos momentos bons e difíceis que passamos; juntos crescemos obrigada.

Aos estagiários: Rafael Freitas, companheiro de experimento em finais de semana e feriados; também Yuri, Fernando Presídio, Gardênia Paraguassu, Isabele Cardoso, Thaís, Tayná, e todos os amigos que fiz neste período e que seria difícil nominá-los.

Às colegas pós-doutorandas Carol Carvalho, Nicole Ribeiro, Priscila Chagas, Mácio Marchione, Samira e, todos que me incentivaram nesta jornada.

Aos professores do programa Prof. Dr. Fernando Habib, Luciana Ramalho, Jean Nunes, Sílvia Reis, Antônio Pita, Cristina Cangussú; pela contribuição e carinho.

Às veterinárias Maria das Graças Pinto e Elisabeth Machado, assim como o técnico Eduardo, pela ajuda na execução do experimento.

À secretária do programa, Sueli Paixão e do Centro de Laser, Sheila Miguez, por todo apoio.

Às técnicas do laboratório da UFBA, Maria de Lourdes Santos e Míriam Moraes.

À Coordenação do Programa, Prof. Dr. Antônio Luiz Barbosa Pinheiro, por todo incentivo prestado ao conhecimento.

À Faculdade de Odontologia da UFBA e todos os funcionários pelo apoio e colaboração. À CAPES, pela concessão de Bolsa de Estudo por 24 meses.

Aos meus familiares que acreditaram em mim e sempre estiveram presentes, em preces e incentivo para esta conquista. Obrigada, sem vocês me fortalecendo nada disso seria possível.

Ao Deus todo poderoso, Budas e entidades benfazejas que cuidam meu caminho e iluminam minha vida em todos os momentos.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS E QUADROS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	22
2.1 QUIMIOTERAPIA.....	22
2.2 MUCOSITE BUCAL.....	26
2.2.1 Tratamentos Indicados.....	35
2.2.1.1 Fotobiomoduladores LASERs e LEDs.....	40
3 PROPOSIÇÃO.....	53
4 METODOLOGIA.....	54
4.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	54
4.2 ASPECTOS ÉTICOS.....	54

4.3 COLETA E INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS.....	55
4.3.1 Grupos Experimentais.....	55
4.3.2 Procedimentos de Anestesia e Morte dos Animais.....	57
4.3.3 Realização da Quimioterapia.....	58
4.3.4 Indução da Mucosite Bucal.....	58
4.3.5 Fotobiomodulação a laser e LED.....	58
4.3.6 Análise Clínica e Histológica.....	61
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	62
5 RESULTADOS.....	65
5.1 Avaliação Clínica.....	65
5.2 Avaliação Histológica.....	70
6 DISCUSSÃO.....	96
7 CONCLUSÃO.....	109
REFERÊNCIAS.....	110
ANEXO 1- Certificado de aprovação no Comitê de ética em experimentação animal.....	125
APÊNDICE 1- Tabulação dos dados da avaliação histológica dos espécimes.....	126

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A: Área
ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico
ADRI: Adriblastina
AE: *Adverse effect* - Efeito adverso
AIDS: *Acquired Immune Deficiency Syndrome* - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AlGaInP: Alumínio Gálio Índio e Fósforo
ATP: Adenosina trifosfato
AsGaAl: Arseneto de Gálio e Alumínio
CEEA: Comissão de Ética em Experimentação Animal
cGy: Centigray(s)
CHX: Clorexidina
CICLOF: Ciclofosfamida
CIS: Cisplatina
CCA: Centro de Criação de Animais
CPC: Cloreto de cetilpiridínio
CTC: *Common Toxicity Criteria*
CTCAE: *Common Terminology Criteria for Adverse Events*
CTP-11: Irinotecan
CW: *Continuous Wave* - Emissão contínua
DNA: Ácido desoxirribonucléico
D: Dose ou fluência da energia de entrega
d(0): Dia do início da quimioterapia
DOX: Doxorrubicina
E: Energia
EORTC: *European Organization for Research and Treatment of Oral Cancer* – Organização Européia para Pesquisa e Tratamento de Câncer Bucal
ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group* – Grupo Cooperativo de Oncologia Oriental
EV: Endovenosa
FDA: *Food and Drug Administration* – Administração de Medicamentos e Alimentos
FOUFBA: Faculdade de Odontologia da UFBA
FUDR: Fluorpirimidina
5-FU: 5-fluorouracil
G²: Fase de mitose gap 2
GaAlAs: *Galium Aluminum Arsenide* – Arseneto de Gálio e Alumínio
G-CSF: *Granulocyte Colony-Stimulating Factor* - Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos
GM-CSF: *Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor* - Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos e Macrófagos
GVHD: *Graft versus host disease* – Doença do Hospedeiros *versus*

Enxerto
He-Ne: Hélio Neônio
I: Intensidade
IARC: *International Agency for Research on Cancer* - Agência Internacional para Pesquisa em Câncer
INCA: Instituto Nacional de Câncer
IL: Interleucina
IR/ IV: *Infrared* – luz infravermelha
J: Joule
KTP: *Keratinocyte Transcriptional Protein* - Proteína Transcricional de Queratinócitos
LASER: *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* - Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação
LEA: Laboratório de Experimentação Animal
LED: *Light Emitting Diode* - Luz Emissora de Diodo
LEUCO: Leucovorin
LEDT: *Light Emitting Diode Therapy* - Terapia com Luz Emissora de Diodo
LILT: *Low Intensity Laser Therapy* - Terapia com Laser em Baixa Intensidade
LLLT: *Low Level Laser Therapy* - Terapia com Laser de Baixa Potência
m²: Metro(s) quadrado(s)
MASCC/ISOO: *Mucositis Study Group of the Multinational Association for Supportive Care in Cancer / International Society of Oral Oncology* - Grupo de Estudo da Mucosite da Associação Multinacional de Tratamento Paliativo no Câncer / Sociedade Internacional da Oncologia Bucal
MB: Mucosite bucal
µm: Micra(s)
mW: Miliwatt(s)
MP: Mercaptopurina
MS: Ministério da Saúde
mTOR: *Mammalian Target of Rapamycin* – Alvo de Rapamicina de Mamíferos
mIAS: *mTOR Inhibitor-Associated Stomatitis* - Estomatite Associada ao Inibidor de mTOR
MTX: Metotrexato
M-VAC: Metotrexato, vinblastina, doxorubicina e cisplatina
NCI CTC: *National Cancer Institute Common Toxicity Criteria* – Critérios de Toxicidade Comum do Instituto Nacional do Câncer
NCIC CTG: *National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group* – Instituto Nacional do Câncer do Grupo de Ensaios Clínicos do Canadá
NCCTG: *North Central Cancer Treatment Group* - Grupo de Tratamento de Câncer Norte Central
NF-κB: *Nuclear Factor κB*- Fator de Transcrição da Família Kappa

nm: Nanômetro(s)
OAG: *Oral Access Guide* – Guia de Acesso Bucal
OMAS: *Oral Mucositis Assessment Scale* – Escala de Avaliação da Mucosite Bucal
P: Potência
PDGF: *Platelet Derived Growth Factor* - Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PFL: Cisplatina, Fluorouracil e Leucovorin
pH: Potencial hidrogênico
RNA: Ácido ribonucléico
RTOG: *Radiation Therapy Oncology Group* – Grupo de Radioterapia Oncológica
S: Fase da mitose de síntese do DNA
TFF: *Trefoil Family Factor* - Fator da Família Trefoil
TGF: *Transforming Growth Factor*- Fator de Transformação do Crescimento
TMO: Transplante de medula óssea
TNF: *Tumor Necrosis Factor* - Fator de Necrose Tumoral
V: Luz vermelha
VAS: *Visual Analogue Scale* - Escala Visual Analógica
VINCR: Vincristina
W: Watt(s)
WHO: *World Health Organization* - Organização Mundial de Saúde
Φ: Diâmetro do *spot* de saída da luz
λ : Comprimento de onda

LISTA DE FIGURAS

Figura 1A	Escarificação da mucosa jugal do hamster (FREIRE, 2010).	60
Figura 1B	Injeção IP do quimioterápico 5-FU (FREIRE, 2010).	60
Figura 1C	Irradiação com laser vermelho (FREIRE, 2010).	60
Figura 1D	Irradiação com laser infravermelho (FREIRE, 2010).	60
Figura 1E	Irradiação com LED vermelho (FREIRE, 2010).	60
Figura 1F	Irradiação com LED infravermelho (FREIRE, 2010).	60
Figura 2 A	Ausência de lesão (grau 0) (FREIRE, 2010).	64
Figura 2B	Mucosa hiperêmica (grau 1) (FREIRE, 2010).	64
Figura 2C	Mucosa com eritema e lesão superficial (grau 2) (FREIRE, 2010)	64
Figura 2D	Presença de pequena úlcera (grau 3) (FREIRE, 2010).	64
Figura 2E	Ulceração (grau 4) (FREIRE, 2010).	64
Figura 2F	Ulceração (grau 5) (FREIRE, 2010).	64
Figura 3A	Fotomicrografia do grupo controle positivo aos sete dias; observa-se integridade da superfície epitelial, moderada fibrose e leve infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (FREIRE e ROCHA, 2011).	76
Figura 3B	Fotomicrografia do grupo controle positivo (14 dias), com integridade da superfície epitelial e ausência de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (FREIRE e ROCHA, 2011).	76
Figura 3C	Fotomicrografia do grupo controle negativo (7dias), com integridade da superfície epitelial e ausência de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (FREIRE e ROCHA, 2011).	76
Figura 3D	Fotomicrografia do grupo controle negativo (14 dias), com integridade da superfície epitelial e ausência de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (FREIRE e ROCHA, 2011).	76
Figura 4A	Fotomicrografia do grupo laser V (660nm) protocolo preventivo aos 7 dias, com integridade da superfície epitelial, fibrose moderada, discreta congestão vascular e ausência de inflamação (FREIRE e ROCHA, 2011).	77
Figura 4B	Fotomicrografia do grupo laser V (660nm) protocolo preventivo aos 14 dias, com integridade epitelial, fibrose moderada, congestão vascular moderada e discreto infiltrado linfoplasmocitário (FREIRE e ROCHA, 2011).	77
Figura 4C	Fotomicrografia do grupo laser V (660nm) protocolo terapêutico aos 7 dias, com integridade epitelial, fibrose moderada e vasos sanguíneos	

	congestos (FREIRE e ROCHA, 2011).	77
Figura 4D	Fotomicrografia do grupo laser V (660nm) protocolo terapêutico aos 14 dias, integridade epitelial e severo infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (FREIRE e ROCHA, 2011).	77
Figura 5A	Fotomicrografia do grupo laser IV (780nm) protocolo preventivo aos sete dias, integridade da superfície epitelial e ausência de infiltrado inflamatório (FREIRE e ROCHA, 2011).	78
Figura 5B	Fotomicrografia do grupo laser IV (780nm) protocolo preventivo aos 14 dias, com ruptura da superfície epitelial associada a focos de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (FREIRE e ROCHA, 2011).	78
Figura 5C	Fotomicrografia do grupo laser IV (780nm) protocolo terapêutico aos sete dias, com integridade epitelial, moderada fibrose e poucos vasos sanguíneos congestos (FREIRE e ROCHA, 2011).	78
Figura 5D	Fotomicrografia do grupo laser IV (780nm) protocolo terapêutico aos 14 dias, com integridade epitelial e poucos vasos congestos (FREIRE e ROCHA, 2011).	78
Figura 6A	Fotomicrografia do grupo LED V (670nm) protocolo preventivo aos sete dias, com perda parcial da superfície epitelial (FREIRE e ROCHA, 2011).	79
Figura 6B	Fotomicrografia do grupo LED V (670nm) protocolo preventivo aos 14 dias, com integridade da superfície epitelial e discreta fibrose (FREIRE e ROCHA, 2011).	79
Figura 6C	Fotomicrografia do grupo LED V (670nm) protocolo terapêutico aos sete dias, com fibrose moderada (FREIRE e ROCHA, 2011).	79
Figura 6D	Fotomicrografia do grupo LED V (670nm) protocolo terapêutico aos 14 dias, com moderado grau de fibrose (FREIRE e ROCHA, 2011).	79
Figura 7A	Fotomicrografia do grupo LED IV (850nm) protocolo preventivo aos sete dias, epitélio íntegro e presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (FREIRE e ROCHA, 2011)..	80
Figura 7B	Fotomicrografia do grupo LED IV (850nm) protocolo preventivo aos 14 dias, integridade epitelial e poucos vasos sanguíneos congestos (FREIRE e ROCHA, 2011).	80
Figura 7C	Fotomicrografia do grupo LED IV (850nm) protocolo terapêutico aos sete dias, com integridade epitelial e poucos vasos congestos (FREIRE e ROCHA, 2011).	80
Figura 7D	Fotomicrografia do grupo LED IV (880nm) protocolo terapêutico aos 14 dias, com integridade epitelial e discreto grau de fibrose (FREIRE e ROCHA, 2011).	80
Figura 8	Distribuição dos espécimes controle-positivos e controle-negativos, em relação à presença de inflamação, após sete e 14 dias da QT (FREIRE e SARMENTO, 2010).	81

Figura 9	Distribuição dos espécimes na graduação da inflamação após fotobiomodulação com laser (660nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	82
Figura 10	Distribuição dos espécimes na graduação da inflamação após fotobiomodulação com laser (780nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	83
Figura 11	Distribuição dos espécimes na graduação da inflamação após fotobiomodulação com LED (670nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	83
Figura 12	Distribuição dos espécimes na graduação da inflamação após fotobiomodulação com LED (850nm) nos protocolos preventivo e terapêutico (FREIRE e SARMENTO, 2010).	84
Figura 13	Distribuição dos espécimes controle-positivos e controle-negativos, em relação à congestão vascular, após sete e 14 dias da QT (FREIRE e SARMENTO, 2010).	85
Figura 14	Distribuição dos espécimes na graduação da congestão vascular após fotobiomodulação com laser (660nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	85
Figura 15	Distribuição dos espécimes na graduação da congestão vascular após fotobiomodulação com laser (780nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	86
Figura 16	Distribuição dos espécimes na graduação da congestão vascular após fotobiomodulação com LED (670nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	87
Figura 17	Distribuição dos espécimes na graduação da congestão vascular após fotobiomodulação com LED (850nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	87
Figura 18	Distribuição dos espécimes controle-positivos e controle-negativos, em relação à necrose, após sete e 14 dias (FREIRE e SARMENTO, 2010).	88
Figura 19	Distribuição dos espécimes na graduação de necrose após fotobiomodulação com laser (660nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	89
Figura 20	Distribuição dos espécimes na graduação de necrose após fotobiomodulação com laser (780nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	89
Figura 21	Distribuição dos espécimes na graduação de necrose após fotobiomodulação com LED (670nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	90
Figura 22	Distribuição dos espécimes na graduação de necrose após fotobiomodulação com LED (850nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	91
Figura 23	Distribuição dos espécimes controle-positivos e controle-negativos, em relação à presença de fibrose, após sete e 14 dias (FREIRE e SARMENTO, 2010).	92

Figura 24	Distribuição dos espécimes na graduação da fibrose após fotobiomodulação com laser (660nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	93
Figura 25	Distribuição dos espécimes na graduação da fibrose após fotobiomodulação com laser (780nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	93
Figura 26	Distribuição dos espécimes na graduação da fibrose após fotobiomodulação com LED (670nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	94
Figura27	Distribuição dos espécimes na graduação da fibrose após fotobiomodulação com LED (850nm) nos protocolos preventivos e terapêuticos (FREIRE e SARMENTO, 2010).	95

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1	Grupos experimentais do estudo (FREIRE, 2010).	55
Quadro 2	Detalhamento da rotina de aplicação das luzes no decorrer do estudo (FREIRE, 2010).	63
Tabela 1	Número de animais de acordo com grau de MB, Sonis <i>et al.</i> (2000), após avaliação clínica dos grupos experimentais lasers (FREIRE, 2010).	66
Tabela 2	Número de animais de acordo com grau de MB, Sonis <i>et al.</i> (2000), após avaliação clínica dos grupos experimentais LEDs (FREIRE, 2010).	66
Tabela 3	Número de animais de acordo com grau de MB, Sonis <i>et al.</i> (2000), após avaliação clínica dos grupos controle positivo (FREIRE, 2010).	67
Tabela 4	Massa corporal dos animais dos grupos controle positivos e negativos após sete ou 14 dias (FREIRE, 2010).	68
Tabela 5	Massa corporal dos animais que receberam 5-FU e foram tratados com luz laser V e IV, nos protocolos preventivos ou terapêuticos, sacrificados aos sete ou 14 dias após o início da QT (FREIRE, 2010).	69
Tabela 6	Massa corporal dos animais que receberam 5-FU e foram tratados com luz LEDs V e IV, nos protocolos preventivos ou terapêuticos, sacrificados aos sete ou 14 dias após o início da QT (FREIRE, 2010).	70

RESUMO

A mucosite bucal (MB) é um efeito adverso muito doloroso e frequentemente relacionado aos tratamentos de radioterapia (RxT) em cabeça e pescoço e quimioterapia (QT) oncológica. Formas de preveni-la, novos métodos terapêuticos são amplamente investigados visando melhor qualidade de vida para esta população, impedir a interrupção do tratamento, o que poderia comprometer a cura e sobrevida do paciente. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da fotobiomodulação com luz laser nos espectros vermelho (V) e infravermelho (IV) ($P=40\text{mW}$, irradiações de 30" em quatro pontos na fluência de $1,2\text{J}/\text{cm}^2$) e LED ($P=150\text{mW}$ e tempo de 16", $\text{DE}=4,8\text{J}/\text{cm}^2$), na prevenção e tratamento da MB, secundária ao tratamento quimioterápico. Para tal, hamsters da linhagem *Sirius dourados*, foram submetidos à QT à base de 5-Fluorouracil (5-FU) e indução da MB, e posteriormente suas mucosas jugais foram tratadas com lasers V (670nm) e IV (780nm) e LEDs V (680nm) e IV (850nm). As irradiações foram realizadas a cada 48 horas e nos grupos preventivos iniciaram tratamento com luz um dia antes do protocolo de QT d(-1), enquanto os terapêuticos em d(+3). Os animais foram mortos aos sete e 14 dias e a mucosa jugal removida, preparada e avaliada histologicamente. Os animais ainda foram analisados de forma objetiva clinicamente, quanto ao grau de MB e massa corporal, mensurada no início e ao final dos dias experimentais; subjetivamente foi observada xerostomia, alopecia e injeção alimentar. Os resultados revelaram uma perda de massa corporal nos controles-positivos (QT e mucosite-indução) e em todos os grupos experimentais, sendo esta significativa (teste t de Student; $p < 0,05$) principalmente nos animais mortos após sete dias, tanto nos grupos tratados com lasers quanto com LEDs. Histologicamente, apresentaram discreta inflamação predominantemente linfo-plasmocitária que tendeu a diminuir com o decorrer do experimento. Nos grupos lasers, tanto de forma preventiva quanto terapêutica, essa intensidade de inflamação foi mantida, a não ser quando do uso do laser V de forma preventiva (após sete dias). Em alguns espécimes tratados com LED V de forma terapêutica, o grau de inflamação chegou a ser moderado. A congestão vascular, ausente nos grupos controles-positivos, foi observada de intensidade discreta a severa, principalmente nos animais submetidos à fotobiomodulação com laser. Necrose tecidual foi um achado relativamente comum nos animais tratados com LED IV de forma terapêutica, mesmo grupo no qual a perda da integridade epitelial foi frequente e a fibrose tecidual foi encontrada em todos os grupos avaliados. A análise estatística (Qui-quadrado; $\alpha = 5\%$) revelou que os achados histológicos dos animais testados diferiram significativamente daqueles encontrados nos grupos controles-positivos ($p < 0,05$). Concluiu-se que a fotobiomodulação das luzes usadas neste estudo podem significar melhora para prevenção e tratamento dos quadros de MB pós-quimioterapia. **Unitermos:** Laser, LED, modelo animal, mucosite oral, oncologia, quimioterapia.

ABSTRACT

Oral mucositis (OM) is a frequently painful adverse effect related with head and neck radiotherapy (RxT) and chemotherapy (Che). Prevention and treatment have been fully investigated at attention to improve the quality of life for the oncology patient during treatment and at the same time, prevent the interruption of treatment that can compromise the survival rate. This study had the objective to evaluate the effects of photobiomodulation with red and infrared laser irradiations (P=40mW, during 30" in 4 points with the fluence of 1,2J/cm²) and LED (P=150mW, during 16", DE=4,8J/cm² centrally applied), in the prevention and treatment of OM secondary to chemotherapy. Hamsters, *Golden Sirius*, were submitted to Che with 5-Fluoruracil (5-FU) and OM induction at the everted mucosa treated with red (R) (680nm) and infrared (IR) (780nm) laser as well as LEDs in the R (680nm) and IR (850nm) spectrum later. The radiation treatment was done every 48 hour; at preventive groups it started one day before d (-1) the chemotherapy d (0), while therapeutics started on the third day after Che, d (+3). The animals were sacrificed at 7 and 14 days and the mucosa removed, prepared and examined histologically. Every experimental day the animals were clinical examined about the OM degrees and the body mass was also checked. Subjectively alopecia, xerostomia, food injestion and activities were noted too. The results showed a loss of body mass in all of the experimental groups (including the positive control with 5-FU and OM induction), this being significant (student t test, p greater than 0.05) mainly in the animals sacrificed after 7 days, at lasers groups and also at LEDs's groups. Histologically, the positive control groups showed discrete inflammation, predominately lympho-plasmocytes, which tended to diminish with time. In the groups treated with laser the intensity of inflammation persisted, at both preventive or therapeutic groups, but it was better at preventive group after red laser irradiation (animals sacrificed after 7 days). The degree of inflammation was moderated after therapeutic treatment with red LED. Vascular congestion, absent in control groups, was observed discrete to severe intensity, in the animals submitted to laser treatment. Tissue necrosis was a relatively common finding in all infrared LED groups (the same group in which a loss of epithelial integrity was frequent). Different degrees of fibrosis were found in all of the evaluated groups. Statistical analysis chi-square ($\alpha=5\%$) revealed that the histological findings of the tested animals differed significantly from those of the control groups (chi-square test; $p<0.05$). It was concluded that the photobiomodulation lights used at this study showed positive results to prevent and treat OM secondary to chemotherapy. **Uniterms:** Animal model, chemoterapy, laser, LED, oncology and oral mucositis.

1 INTRODUÇÃO

O número crescente de novos casos de câncer em todo o mundo tem motivado o desenvolvimento de novas terapias, equipamentos e medicações antineoplásicas. Porém observa-se que os protocolos de radioterapia, as drogas quimioterápicas e a associação concomitante destas terapias continuam determinando diversos efeitos colaterais indesejáveis, como náuseas, vômitos, diarréias, alopecia, mielossupressão, imunossupressão e mucosite bucal. Esta última caracteriza-se pelo surgimento de eritemas e úlceras dolorosas nas membranas mucosas, e assume um papel de destaque no atendimento odontológico, quando afeta os tecidos bucais.

A mucosite radio ou quimio-induzida é bastante frequente e vem sendo estudada há muito tempo, devido à sua morbidade. A idade, estado geral do paciente, local e tipo de tratamento oncológico são variáveis que modulam o surgimento da mucosite. Na boca, a mucosite ainda sofre influência dos cuidados anteriores com os tecidos bucais, da presença de doença periodontal, de traumas oclusais, das adaptações protéticas e grau de higiene.

A mucosite pode atingir diferentes graus de severidade, chegando, em algumas circunstâncias, a interromper o tratamento oncológico proposto, colocando em risco seu potencial curativo. Isto aumenta o estado de morbimortalidade dos pacientes afetados, o que, por sua vez contribui substancialmente com o aumento de gastos ao sistema de saúde.

Sua nomenclatura vem do inglês "*oral mucositis*", assim encontra-se a denominação mucosite oral, mucosite bucal e mucosite do trato alimentar, mais recentemente sugerida pela Associação Internacional de Oncologia Oral (ISOO); por melhor relatar um problema com manifestação bucal, mas que abrange todo trato gastrointestinal e também para padronização da terminologia (SANTOS *et. al.*, 2009).

Vários estudos são realizados em inúmeros centros de pesquisa mundiais, a fim de testar terapias mucosite-inibidoras para a cavidade bucal e trato gastrointestinal. As pesquisas mais recentes e arrojadas, que incluem a utilização de novas tecnologias, sinalizam para tratamentos à base de luz, como os LASERs (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) e LEDs (*Light Emitting Diode*). Estas são terapias não invasivas, que podem inibir a dor, acelerar o reparo tecidual e assegurar o conforto para alimentação e continuidade ao tratamento oncológico, sem efeitos colaterais quando corretamente administradas. Desta forma, tais terapias tendem a proporcionar uma melhor qualidade de vida a esta população ao longo do tratamento anti-neoplásico e seus protocolos de aplicação são testados e estudados constantemente visando a otimização dos mesmos, assim novos estudos são necessários.

Apesar da interação luz-matéria estar sendo estudada há mais de um século, esta ainda não pode ser considerada completamente elucidada, posto que, muito ainda deve ser esclarecido sobre os mecanismos celulares envolvidos. Pode-se afirmar com certeza, no entanto, que os lasers de baixa intensidade têm efetiva atuação biomoduladora na aceleração do processo de reparo tecidual e qualidade deste, na redução da dor e edema, além dos efeitos anti-inflamatórios confirmados, quando administrados em doses e frequências adequadas. Os LEDs têm mostrado respostas tão satisfatórias quanto às dos lasers e são circunstancialmente mais vantajosos devido ao menor custo dos equipamentos.

Segundo relatório da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC)/ Organização Mundial de Saúde (OMS), (*World Cancer Report 2008*), o impacto global do câncer mais que dobrou em 30 anos. Estimou-se que, no ano de 2008, ocorreriam cerca de 12 milhões de casos novos de câncer e 7 milhões de óbitos. O contínuo crescimento populacional, bem como seu envelhecimento, afetará de forma significativa o impacto dos casos de câncer no mundo. Esse impacto recairá principalmente sobre os países de médio e baixo desenvolvimento, com crescente aumento do número de novos casos.

As tecnologias de ponta na área oncológica não param o desenvolvimento no diagnóstico, imaginologia, marcadores celulares e impulsionam sempre novos estudos. Em fotobiomodulação, as investigações são direcionadas para promover alívio da sintomatologia e melhora na qualidade do tratamento, embora ainda não haja consenso, principalmente em relação aos protocolos preventivos, pela diversidade de equipamentos e na busca de doses ideais de entrega destas energias luminosas. Dessa forma este estudo tem como objetivo avaliar a ação das luzes lasers e LEDs, nos comprimentos de onda no espectro do vermelho (V) e infravermelho (IR), para prevenção e tratamento da mucosite bucal (MB), secundária ao tratamento quimioterápico, em hamsters; no sentido de melhorar o entendimento, otimizar os protocolos utilizados com estes fotobiomoduladores celulares e principalmente, proporcionar conforto e qualidade de tratamento para população oncológica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 QUIMIOTERAPIA

Quimioterapia (QT) é o nome genérico atribuído ao tratamento de qualquer doença por meio de substâncias químicas citotóxicas. Embora associada ao câncer, algumas drogas são utilizadas no tratamento de doenças como: psoríase, esclerose múltipla, artrite reumatóide e alguns tipos de insuficiência renal (BARACAT *et. al.*, 2000). Pode também ser definida como método que utiliza compostos químicos chamados quimioterápicos, no tratamento de doenças causadas por agentes biológicos. Quando aplicada ao câncer, a QT é chamada de antineoplásica ou antitumoral (BRASIL, 1999).

Os agentes antineoplásicos afetam tanto as células normais como as neoplásicas, porém, acarretam maior dano às células malignas, devido às diferenças quantitativas entre os processos metabólicos dessas duas populações celulares. (LEITE *et. al.*, 1996; BRASIL,1999; BARACAT *et. al.*, 2000, RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010). O ideal na QT para o câncer é se maximizar a destruição das células tumorais e minimizar o dano às células normais. Infelizmente, muitas drogas anticâncer têm apenas uma pequena margem entre a dose tumoricida e a dose tóxica. Combinação de drogas com diferentes mecanismos de ação estendem a extensão da atividade antitumoral e diminuem o risco de toxicidade, com a diminuição da dose efetiva de cada componente. Estas combinações de quimioterápicos incluem drogas células ciclo-dependentes e ciclo-independentes, cobrindo ambas as fases, proliferativa e vegetativa do ciclo celular (DREIZEN,1990; BRASIL,1999).

A maioria das complicações bucais advindas da QT é resultante da mielossupressão, imunossupressão e do efeito citotóxico direto nos tecidos bucais. Os problemas clínicos principais, associados à QT, na cavidade bucal são: a mucosite, a infecção local e/ou sistêmica e o aumento do risco de sangramento (CONSENSUS,1990; SCULLY e EPSTEIN,1996). A mucosite afeta toda a mucosa gastrointestinal, na boca estas lesões são muito dolorosa

e podem colocar em risco a vida do paciente por perda da barreira epitelial e por vezes, contaminação bacteriana. (IJIRI e POTTEN, 1983,1987; KONING *et. al.*, 2007)

Diversos órgãos e sistemas podem ser atingidos provocando efeitos colaterais e toxicidades, tais como a toxicidade hematológica. Esta compromete o restabelecimento orgânico e deve ter sua monitoração rigorosa, pois assim há condições de verificar a ocorrência do nadir. Este termo se refere ao tempo decorrido entre a aplicação da QT e o menor valor de contagem hematológica que varia entre dez a 14 dias, e o tempo de recuperação da medula óssea, que varia entre 15 a 21 dias após a aplicação do quimioterápico (BARACAT *et. al.*, 2000). Drogas mais recentes desenvolvem efeitos colaterais entre quatro a sete dias e atingem pico em 15 dias (RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010).

Várias classificações são encontradas sobre a quimioterapia. De acordo com seu potencial terapêutico podem ser: neoadjuvante, adjuvante, curativa, potencializadora e paliativa (BRASIL,1999; BARACAT *et. al.*, 2000). Classificações baseadas na fase do ciclo que atua a QT, no mecanismo de ação e estrutura química. Como exemplo, os agentes de ação específica atingem as células tumorais que se encontram na mesma fase de divisão do agente antitumoral, e são mais citotóxicos quando infundidos em doses fracionadas ou em infusão contínua. Já os agentes de ação não específica atingem todas as células, independente da fase do ciclo de divisão em que se encontra, sendo mais eficazes se administrados *in bolus*, dose única (CLARK e MCGREE, 1997). Nas classificações que priorizam a estrutura bioquímica, os agentes antineoplásicos podem ser distribuídos em: alquilantes, antimetabólicos, antibióticos, alcaloides de plantas, agentes hormonais e imunoterapias. O 5-fluorouracil é um quimioterápico antimetabólico, estes constituem um grupo de agentes antineoplásicos de grande versatilidade terapêutica. Seu mecanismo de ação é a inibição da síntese de proteínas, substituindo metabólitos errôneos ou estruturas análogas durante a síntese do DNA, impedindo a duplicação e separação das cadeias de DNA. Incluem-se

neste grupo: citarabina, metotrexato, fluoropirimidinas [5-fluorouracil (5-FU), FUDR], gencitabina, fludarabine, mercaptopurina (6MP) e 6 tioguanina (BRENTANI *et. al.*, 1998).

Das 337 crianças em tratamento oncológico na pesquisa do Instituto Gustave Roussy, Villejuif- Paris, 241 apresentaram mucosite quimioinduzida, cujos graus foram caracterizados por meio da CTC (*Common Toxicity Criteria*), depois de regimes de QT a base de Melphalan, Busulfan e outro alquilante; constataram os autores a associação nos três regimes testados e a instalação de lesões de mucosite, com maior prevalência no grupo do Busulfan (FADDA, CAMPUS e PIERFRANCA, 2006).

Foi avaliado o efeito da QT a base de doxorubicina (DOX) na indução da mucosite em tecido epitelial e mesenquimal de ratos BALB/c. Foram empregadas doses baixas (6 a 4 mg/kg) para um primeiro grupo; doses médias (8 e 5 mg/kg), para o segundo grupo e doses altas (10 e 6mg/kg) para o terceiro grupo experimental, enquanto o grupo controle recebeu volume equivalente de 0,9% de cloreto de sódio. Os grupos de baixas e altas doses foram sacrificados nos dias um, dois, três e sete, enquanto o de dose média nos dias três e sete, com segmentos intestinais coletados e congelados em nitrogênio líquido (80⁰C), para análise histológica e isolamento de proteínas. Os resultados mostraram que a mucosite apresentou-se muito severa no dia três e sua regeneração começou no dia sete, para o grupo de alta dosagem. Houve diminuição da apoptose e proliferação celular, as células epiteliais perderam seu alto grau de diferenciação e apresentaram baixa regulação epitélio específico SI, já nos dias dois e três; apresentaram decréscimo expressivo de TFF3 (Fator da Família Trefoil), peptídeo bioativo produzido e secretado pelas células caliciformes, nos dias um e dois que pode ter sido devido a diminuição da diferenciação celular ou da própria diminuição da secreção do TFF3. O dia três apresentou maior severidade com mudanças morfológicas caracterizadas por atrofia severa das vilosidades intestinais, aumento significativo no comprimento e perda das criptas, achatamento do epitélio e inibição da proliferação e diferenciação no epitélio comprometido (KONING *et. al.*, 2007).

Após pesquisa em cortes histológicos da mucosa do saco jugal dos hamsters tratados com 5-FU, foi encontrado aumento das células no tecido subepitelial, dilatação vascular e marginação de leucócitos logo nas primeiras 24 horas após administração do quimioterápico, atingindo o DNA das células em alta replicação celular (SONIS, 1998).

Em recente estudo fase II foi realizada avaliação do uso concomitante de cisplatina (CIX) com 5-FU e leucovorin associados, e intercalados com irinotecan com 5-FU e leucovorin associados, e docetaxel, combinados com cisplatina e 5-FU. Foram encontrados graus de toxicidades três e quatro, 37% de neutropenia, 4% de diarreia e 9% de estomatite ou mucosite (LOUPAKIS *et. al.*, 2010).

Uma nova geração de agentes antineoplásicos tem sido mais recentemente empregada. São drogas de origem proteica - os inibidores mTOR - alvo de rapamicina de mamíferos, derivada da proteína serina/threonina kinase, presente em todas as células de mamíferos e expressa em muitos cânceres. Avaliados clinicamente já se tem três inibidores mTOR, o temsirolimus, que obtiveram aprovação do FDA em 2007, para o tratamento de carcinoma renal avançado; o everolimus, aprovado em 2009, para uso em pacientes com metástase avançada de carcinoma renal, e em 2011, o FDA aprovou utilização do ridaforolimus para metástase em tecido mole e sarcomas ósseos. Estes agentes sozinhos ou combinados com outros agentes quimioterápicos e terapias alvo estão sendo investigados para atuar em várias formas malignas como glioblastomas, melanomas, linfomas e câncer de mama atualmente (GALANIS *et. al.*, 2005 FAIVRE, KROEMER e RAYMOND, 2006; BALDO *et. al.*, 2008; GRIDELLI, MAIONE e ROSSI, 2008; MARTINS *et. al.*, 2013).

Em revisão atual dos efeitos os dos inibidores mTOR, efeitos adversos ocorreram em 74.4% dos pacientes (2033/2734), sendo o mais frequente a mucosite ou como definida mIAS, denominação das estomatites associadas aos inibidores mTOR, com incidência de 73,4% (1493/2033). Lesões descritas como dolorosas, duradouras e ulceradas, que se assemelham a estomatite

herpética ou aftosa, e geralmente ocasionando toxicidade dose limitante (DLT), a depender do inibidor mTOR administrado (MARTINS *et. al.*, 2013).

2.2 MUCOSITE BUCAL

A mucosite bucal (MB) é um efeito tóxico que aflige pacientes com câncer tratados com QT ou irradiação de cabeça e pescoço. Devido à dor severa, a mucosite interfere na qualidade de vida e nutrição, como também aumenta o risco de infecções nos pacientes imunocomprometidos, devido à quebra de barreira, que pode ocorrer em mucosa epitelial. Geralmente é fator limitante da dose, interferindo negativamente na terapia anticancer (CONSENSUS, 1990; OVERHOLSER, 1995; MIGLIORATI e MIGLIORATI, 2000; RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010).

Fatores podem interferir no aparecimento e gravidade da mucosite, como a idade. Os jovens são mais suscetíveis que os idosos, devido ao número de mitose no epitélio basal ser maior (SONIS, SONIS e LIEBERMAN, 1978); higiene inadequada; tipo de neoplasia, mais intensa nas leucemias e linfomas; protocolos de altas doses; exposição a agentes físicos ou químicos; desnutrição protéica e desidratação (LEITE *et. al.*, 1998; RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010). Enquanto algumas pesquisas sinalizam para maior susceptibilidade em mulheres (ZALCBERG *et. al.*, 1998; VOKURKA, BYSTRICKA e KOZA 2006), outros autores dizem não haver influência de gênero (ROCKE *et. al.*, 1993). Também permanece controversa sua incidência quanto à idade, pois alguns pesquisadores encontraram maior prevalência e/ou severidade das lesões de MB em adultos (ROCKE *et. al.*, 1993; MCCARTHY *et. al.*, 1998; ZALCBERG *et. al.*, 1998).

A trombocitopenia causada pela leucemia, linfoma ou mielossupressão, geralmente ocasiona mucosite acompanhada de sangramento bucal em pacientes imunocomprometidos. Quando a trombocitopenia é severa predispõe

o paciente ao sangramento no simples procedimento mecânico de escovação dentária, aumentando o risco de septicemias (CONSENSUS, 1990; GALLAGER, 1995; DONNELLY *et. al.*, 2003).

A severidade e incidência podem variar de pessoa para pessoa e sua probabilidade está diretamente associada ao tratamento indicado. A literatura estima cerca de 40% de aparecimento de MB em regimes de QT, cujo aparecimento está relacionado ao número de ciclos e toxicidade direta das drogas administradas. Drogas que diretamente atingem a síntese de DNA (agentes fase-S específicos), como o 5-FU, metotrexato (MTX) e citarabina, provocam maiores efeitos estomatotóxicos. Doses contínuas ou *in bolus*, diminuem o risco de aparecimento da MB comparadas a infusões repetidas em doses baixas e prolongadas do agente citotóxico (PETERSON,1999). A incidência sobe para 76% nos pacientes sob regime de altas doses de QT durante transplante de medula óssea; e de 30% a 60% em pacientes sob regimes de radioterapia em cabeça e pescoço, alcançando patamares maiores que 90% quando a QT é concomitante (BERGER e KILROY,1997; WILKES,1998).

Há variação nos fatores predisponentes ao aparecimento de MB após QT e radioterapia, mas acredita-se que sua ocorrência pode alcançar níveis maiores que 75% na população com doença periodontal crônica. Já nos indivíduos não fumantes e naqueles com cuidados adequados de higiene bucal, a incidência definitivamente é reduzida (SONIS *et. al.*, 1999, BARASCH e PETERSON, 2003).

A MB tem como potenciais consequências a dor severa, o aumento do risco de infecção local e sistêmica, comprometimento bucal e da função faringiana e sangramento, que afetam a qualidade de vida e podem prolongar o tempo de internamento. Com isso há aumento também no custo do tratamento. Nos pacientes em imunossupressão e mielossupressão, a infecção representa um risco significativo que causa morbidade e até mortalidade

(EPSTEIN e SCHUBERT, 1999; MIGLIORATI, 2006; LALLA, SONIS e PETERSON, 2008; RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010).

A resposta tecidual, no caso da MB, é fator limitante à radioterapia e QT, com respostas desiguais a depender do tecido. Existem zonas mais sensíveis, como a mucosa do palato mole e assoalho bucal, e outras mais resistentes, como o dorso da língua (GRINSPAN, 1982 e 1991, LALLA, SONIS e PETERSON, 2008).

Estima-se que cerca de 50% dos pacientes com câncer desenvolvam efeitos agudos ou crônicos, nas terapias de radiação e quimioterapia sistêmica. Podem ser citados: ulcerações na mucosa, alterações ósseas, defeitos no desenvolvimento dentário, sangramento, infecções de origem bacteriana, fúngica ou viral, deficiência nas glândulas salivares, cáries de radiação e doenças periodontais. Complicações agudas podem aparecer como: perda do paladar, perda de apetite, dificuldade na deglutição, náuseas, perda de peso e trismos (CARL, 1993; SCULLY e EPSTEIN, 1996; MIGLIORATI e MIGLIORATI, 2000; RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010).

Sobre a desorganização da estrutura celular após radioterapia e QT, observam-se alterações por toda a mucosa bucal que variam de discreto desconforto até lesões ulcerativas severas. Em seu aspecto macroscópico estas lesões aparecem eritematosas e em estágios mais severos, as ulcerações são recobertas por membranas fibrino-purulentas extremamente dolorosas, que se convertem em nichos ou vias potenciais para infecção. A mucosite geralmente se desenvolve a partir da segunda semana do início da radioterapia e logo na primeira semana da QT (RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010). Mais frequentemente em mucosa jugal, assoalho bucal, palato mole e borda lateral da língua. Com o aumento da sensibilidade na mucosa bucal, surge a dificuldade na higiene e conseqüentemente inicia-se o processo instalação e proliferação de microrganismos oportunistas. Com a diminuição do fluxo salivar e de seus elementos de defesa, a mucosa bucal torna-se ainda mais vulnerável a ação dos microrganismos, comumente infecções por

Candida albicans, além da formação de bolhas, descamação, ardência na região, dor e necrose (LOPES *et. al.*, 1998; DONNELLY *et. al.*, 2003).

A microbiota bucal pode também ter seu papel na progressão da destruição da mucosa, como sugerido em estudos com bactérias gram-negativas, na mucosite radioinduzida. Uma pobre higiene bucal é associada à mucosites mais severas. Intensa higiene bucal tem sido recomendada para redução da MB, em pacientes submetidos ao transplante de medula óssea (TMO), enquanto não há sangramento provocando risco de bacteremias (BOROWSKI *et. al.*, 1994).

A mucosite é fator de desconforto e limitação do tratamento. Como as células da mucosa possuem um alto índice de proliferação e se renovam em um período de sete a 14 dias; durante o tratamento quimioterápico há interferência da droga em relação ao ciclo celular, impedindo sua renovação e favorecendo o aparecimento da mucosite. (CONSENSUS, 1990; PLEVOVÁ, 1999; BARACAT *et. al.*, 2000; KEEFE *et. al.*, 2007; RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010).

O efeito citotóxico da QT na replicação das células da mucosa bucal pode resultar em MB severa. O paciente sente uma sensação de queimação na mucosa com aproximadamente uma semana de administração da droga quando a mucosa pode parecer eritematosa. A lesão subsequente é a úlcera, que pode ser focal ou se estender aos tecidos adjacentes. As alterações histológicas associadas com estes achados clínicos na maioria das vezes incluem: degeneração de colágeno, degeneração das glândulas salivares menores, atrofia epitelial e displasia. Uma vez ulcerada a mucosa bucal pode ser secundariamente infectada durante as granulocitopenias. Então as mucosites induzidas por drogas representam uma porta de entrada para as infecções sistêmicas (PETERSON, 1990, 1999; SCULLY e EPSTEIN, 1996; EDUARDO, 2003).

Complexas hipóteses vêm sendo propostas para explicitar o mecanismo pelo qual a MB se desenvolve e é resolvida, didaticamente dividida em quatro

fases (SONIS, 1998): fase inicial de inflamação ou fase vascular; fase epitelial; fase ulcerativa ou bacteriológica e fase cicatricial. Na primeira há liberação de citocinas, interleucina 1 (IL1), com estímulo da vascularização subepitelial e maior concentração de agentes citotóxicos da QT. Concomitantemente ocorre aumento dos fatores de necrose tumoral (TNF), caracterizando a fase inflamatória. Na fase epitelial diminui a proliferação celular, desnudando um epitélio delgado, tornando-o atrófico e provocando uma mucosa eritematosa devido ao aumento da vascularização local. Sequencialmente pode-se desenvolver a fase ulcerativa, muito debilitante e bastante sintomática, coincidindo com o período de maior neutropenia, com inibição das respostas imunológicas e formação de úlceras que poderão ser contaminadas por fungos e bactérias e provocar infecções locais e septicemias, e maior agravamento dos quadros. A fase cicatricial sucede promovendo neoformação vascular, aumento da proliferação celular, de fibroblastos e com a normalização das taxas sanguíneas (DONNELLY *et. al.*, 2003).

Porém, após pesquisas mais elucidativas, foi proposto um rearranjo dessas fases (SONIS, 2004), descritas em cinco estágios como: fase de iniciação, fase de resposta primária ao dano, fase de amplificação dos sinais, fase de ulceração e fase de cura. A primeira ocorre logo que a QT é administrada e imediatamente as células da camada basal sofrem alteração, principalmente com drogas que atuam diretamente no DNA das células, derivando radicais livres e instalando-se a mucosite propriamente dita. Então a fase de resposta primária é iniciada com ativação das citocinas, IL -1p e IL-6, além do TFN, do Fator Nuclear kappa B (NF-kB) e de proteínas pró-inflamatórias agressoras deste epitélio e conjuntivo, e, promotoras de apoptose; diminuindo a proliferação e diferenciação celular local. As lesões se amplificam nesta fase, principalmente por falta de resposta imunológica adequada, já que este sistema se encontra debilitado também em virtude da QT. Macrófagos são encontrados e a resposta inflamatória é ampliada em epitélio e endotélio, ou seja, fase de amplificação. Na fase seguinte úlceras são formadas, expondo ainda mais a integridade da mucosa e suas terminações nervosas, podem se tornar porta de entrada para reinfecções bacterianas nos

pacientes neutropênicos e significar situação de risco para septicemias. Com as taxas das células brancas em estabilidade inicia-se a última fase, a de cura, e o processo começa a regredir ocorrendo a reparação epitelial. A sintomatologia do quadro, que é iniciada com ardência, aparecimento de eritema, úlceras e dor intensa, chega ao fim com o retorno às condições de normalidade e caracterização dos diversos graus de mucosite (DONNELLY *et. al.*, 2003; SONIS *et. al.*, 2004).

Recentes pesquisas têm elucidado que as vias associadas a moléculas pró-inflamatórias, incluindo ciclo-oxigenase 2, Fator Nuclear Kappa B (NF-kB), e a IL6, como reguladores da MB. Estes representam potenciais alvos terapêuticos para novos tratamentos (SONIS *et. al.*, 2007; LOGAN *et. al.*, 2007).

Entre as drogas quimioterápicas que tipicamente causam a MB incluem-se: MTX, DOX, 5-FU e bleomicina. Embora seja difícil se prever quais pacientes em regime de QT com estas drogas irão desenvolver a mucosite, estudos sugerem ser uma pobre higiene bucal um fator predisponente (PETERSON, 1990,1999; FREIRE, 2004).

Muitas metodologias têm sido descritas para quantificar a severidade da MB e, de maneira geral, os autores não citam o grau nem o nível. Via de regra, há associação com os efeitos colaterais generalizados, distúrbios da fala, mastigação, entre outros. Autores citam dados imprecisos de difícil interpretação, quando se referem a eritema leve ou pronunciado. Enfatiza-se a importância da graduação da mucosite e classificação segundo relação dose/resposta como sendo nos níveis zero, um, dois, três e quatro. O nível zero, sem alteração. O nível um, com leve eritema. O nível dois, presença de eritema pronunciado. O nível três, a mucosite com manchas espalhadas. O nível quatro, apresentando mucosite confluyente e placas com 5 milímetros (VAN DER SCHUEREN *et. al.*, 1990; SPIKERVET,1991).

A graduação da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1979, permanece a mais utilizada e categoriza os quadros de MB nos graus de zero

a quatro. O grau zero indica nenhuma alteração; o grau um, se refere ao aparecimento de ulceração e eritema; no grau dois, observa-se eritema e úlcera causando dificuldade de ingestão de sólidos; no grau três, as úlceras presentes impossibilitam a ingestão de sólidos e no grau quatro, a alimentação está impossibilitada.

Outro método para quantificar a alteração tecidual da MB na cavidade bucal foi idealizado por Hickey, já em 1982, quando classificou em graus zero, um, dois e três; no grau zero não existe estomatite; no grau um, a área gengival está irritada ou o paciente se refere a leve sensação de queimação ou desconforto na cavidade bucal; no grau dois o eritema é moderado e ulcerações ou manchas brancas estão presentes; o paciente se queixa de dor, mas pode comer, beber e engolir. No grau três, observa-se grave eritema e ulcerações ou manchas brancas; o paciente se queixa de intensas dores e não consegue comer beber ou engolir (CARL, 1983).

O Instituto Nacional do Câncer norte-americano (NCI, 2004), estabeleceu um critério de toxicidade para graduar as estomatites, de graus um a quatro como: grau um, úlceras sem dor, eritema ou dor moderada; grau dois, quando há eritema doloroso, edema e úlcera, mas capacidade de se alimentar; grau três, com sintomatologia e incapacidade de alimentação; grau quatro, o paciente requer alimentação parenteral ou enteral.

O sistema de graduação de MB na terapia de radiação oncológica foi dividido em duas categorias de total e funcional, onde a primeira é acessada pelo profissional de saúde e a segunda pelo paciente. Nesta classificação o profissional gradua de zero a quatro: sendo grau zero, sem sintomas ou sinais; grau um, presença de eritema doloroso; grau dois, lesão de mucosite em menos da metade da mucosa; grau três, mucosite fibrinosa em mais da metade da mucosa e grau quatro, mais da metade da mucosa bucal com presença de hemorragia e ou necrose nas lesões (NCI, 2004).

Em fórum de enfermagem oncológica foi proposto o Guia de Acesso Bucal (OAG); (EILER, BERGER e PETERSON, 1988). Este é um dos escores

utilizados para quantificar e pesquisar o tamanho, severidade e tratamentos propostos para lesões de MB. O escore varia de de zero a três, onde zero indica nenhuma lesão; um, lesão menor que 1cm²; dois, caracteriza lesões entre 1 e 2 cm² e três, quando apresentam-se maior que 3 cm². Já a caracterização do eritema é graduado de zero a dois, onde zero refere-se à ausência de eritema, um, eritema moderado e dois, eritema severo. (SONIS *et. al.*, 1999).

Muitas variedades de escalas estão sendo utilizadas como medidas para averiguar a extensão e severidade da MB, tanto na prática clínica quanto em pesquisas. A escala da OMS é simples e adequada ao uso na prática clínica diária, sendo uma combinação objetiva e subjetiva. A do NCI e CTCAE (*Common Terminology Criteria for Adverse Events*), versão 3.0, inclui separadamente análises objetiva e subjetiva para MB. Uma escala bem recomendada em estudos multicêntricos, por sua grande reprodutibilidade interobservadores, e grande correlação objetiva dos graus de MB, avaliando eritema e ulceração em nove diferentes sítios da cavidade bucal, bem como dos sintomas subjetivos dos pacientes é a da OMAS (*Oral Mucositis Assessment Scale*), recomendada para propósitos de pesquisa (SONIS *et. al.*, 1999). Também na avaliação da severidade e toxicidade comum da MB, a escala da ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) é indicada (LALLA, SONIS e PETERSON, 2008).

Para avaliar experimentalmente a MB, um modelo animal foi formulado para pesquisas aplicado até atualidade e com algumas modificações (SONIS, 1990; SONIS *et. al.*, 2000). Neste estudo, os hamsters foram eleitos e o regime de QT à base de 5-FU, com injeção intraperitoneal (IP) 60mg/Kg nos dias zero, cinco e dez; ranhuras com agulha foram confeccionadas por um, dois ou três dias nas mucosas jugais e com sacrifícios para análise histológica das mucosas nos dias zero, dois, cinco, dez, 12, 14 e 16, quando também foi realizada coleta de sangue para avaliação. Três dias após a QT foi verificado eritema, sem ulceração do epitélio; no dia cinco, eritema com áreas de abcesso; dia sete, ruptura do epitélio e ilhas de necrose. Houve progressão do

quadro caracterizada por amplas áreas de ruptura epitelial e necrose superficial no dia nove, culminando com a reparação tecidual. Na análise histológica observou-se epitélio paraqueratinizado e áreas de degeneração hidrópica foram encontradas nos dias dois e cinco da pesquisa. Os capilares estavam dilatados e preenchidos por eritrócitos. Observou-se ainda infiltrado de linfócitos e macrófagos, assim como infiltrado de leucócitos polimorfonucleares nas regiões de abscesso. No dia 14^o o tecido apresentava destruição epitelial e ulceração, sem, no entanto, apresentar infiltrado inflamatório intenso, além de serem observadas áreas de infecção e extensas degenerações teciduais, caracterizadas por colônias de microorganismos e epitélio necrótico.

Atualmente uma nova geração de lesões bucais estão sendo investigadas e associadas ao uso dos inibidores mTOR, caracterizadas como aftas e também clinicamente distintas das lesões de mucosite induzidas por QT. Os EAs mais desenvolvidos com os inibidores mTOR são: estomatites, erupções cutâneas, hiperglicemia, trombocitopenia, fadiga e anemia. As estomatites são as maiores responsáveis pela DLT da terapia e foram denominadas inibidor mTOR associado à estomatites, mIAS. (SONIS *et. al.*, 2010; DE OLIVEIRA *et. al.*, 2011; FERTÉ *et. al.*, 2011).

Nenhuma parte do corpo reflete as complicações da QT para o câncer tão visível e tão nítido como a boca. A infecção, hemorragia, citotoxicidade, nutrição e sinais neurológicos da toxicidade das drogas quimioterápicas são refletidas na cavidade bucal com mudanças de coloração, características, conforto e continuidade da mucosa. Em ambas as terapias, QT e RT, as complicações bucais variam em padrão, duração e número; e nem todo paciente é susceptível a desenvolver todas as complicações (DREIZEN,1990).

Os sinais e sintomas mais observados na mucosite são: queixa de dor, hiperemia, edema, sialorréia e ulceração. A infecção secundária e a hemorragia podem comprometer a alimentação, comunicação verbal, higiene bucal e a auto-imagem. Quando associada à mielodepressão e ao trauma da

mucosa, pode desencadear a contaminação das úlceras por bactérias, vírus e fungos (PLEVOVÁ, 1999; BARACAT *et al.*, 2000).

Foi verificado que a MB piora a qualidade de vida pela dificuldade na alimentação, deglutição, fala e ainda causa distúrbios de sono. Predispõe o indivíduo a infecções locais e sistêmicas, podendo levar a interrupção do tratamento de radioterapia e QT. (CENGIZ *et al.*, 1999; NOTTAGE *et al.*, 2003).

Em tratamentos de câncer na região nasofaríngea, foi investigada a doença periodontal e saúde bucal dos pacientes. Os resultados mostraram que 42% desenvolveram candidíase e 21% apresentaram limitação da abertura bucal. No final do tratamento foi notada a diminuição da capacidade tampão, pH e fluxo salivar, com sensível aumento da presença de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus sp.*, em 25% dos casos (SCHWARZ, 1999).

Os pacientes deveriam ser encorajados a realizar exame clínico bucal minucioso com identificação de problemas que possam acarretar complicações, antes do início do tratamento oncológico propriamente dito. Na presença de infecções é imprescindível a rápida instituição de antibioticoterapia e intervenções para prevenir infecções sistêmicas, além de orientações de controle bucal durante curso do tratamento (SCULLY e EPSTEIN, 1996; CHENG *et al.*, 2001; FREIRE, 2004). A mais importante instrução é a escovação correta com escova macia e pasta fluoretada, com os devidos cuidados de horário e troca mensal da mesma, além das orientações sobre dieta e nutrição balanceada (WILKES, 1998).

2.2.1 Tratamentos Indicados

Um guia de aplicações e cuidados clínicos foi desenvolvido e aprovado pela FDA, visando uma revisão atualizada dos diferentes métodos para terapia da mucosite, o MASCC/ISOO (*Mucositis Study Group of the Multinational Association for Supportive Care in Cancer / International Society of Oral Oncology*). Este guia divide o manejo do tratamento da MB no suporte

nutricional, controle da dor, descontaminação bucal, paliativos para xerostomia, sangramento bucal e intervenções terapêuticas (KEEFE *et. al.*, 2007).

Dentre as muitas técnicas para tratamento da MB, os protetores de mucosa são muito citados. Os mecanismos de defesa da mucosa bucal são aumentados pelo acúmulo de neutrófilos ativados subsequentemente pela administração sistêmica e/ou local do Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos (G-CSF) e pelo Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF). As administrações tópicas destes fatores apresentaram efeitos promissores na mucosa (RADERER *et. al.*, 1997; VAN DER LELIE *et. al.*, 2001). Quando o GM-CSF integrou a fórmula de enxaguatórios bucais aliviou os sintomas da MB sem demonstrar acúmulo nas contagens sanguíneas de neutrófilos (BEZ *et. al.*, 1999). A primeira investigação sobre diminuição de incidência de MB (- 75%) foi após uso do G-CSF em regimes de QT à base de M-VAC (metotrexate, vinblastina, DOX e cisplatina) (ANTMAN *et. al.*, 1988). Efeito similar foi encontrado com o GM-CSF em regime com DOX, isofosfamida e dacarbazina. Já em pesquisa randomizada com QT à base de PFL (cisplatina, fluorouracil e leucovorin), indicados em câncer de cabeça e pescoço, 11 pacientes após uso do GM-CSF apresentaram redução na severidade e duração da MB. (CHI *et al*, 1995; BEZ *et al*, 1999). Porém ainda é contraditória a afirmação de que os fatores G-CSF e GM-CSF administrados via tópica ou intravenosa possam beneficiar as lesões de MB (DUNCAN e GRANT, 2003).

Palifermin é uma nova opção medicamentosa para regimes de altas doses de QT, transplante autólogo de medula e na onco-hematologia. Trata-se de um recombinante humano do fator de crescimento de queratinócito, já aceito pelo FDA e incluso no guia terapêutico MASCC/ISOO. Induz a proliferação celular, aumentando a espessura do epitélio e reduzindo o dano no DNA. (SPIELBERGER *et. al.*, 2004).

A amifostina é outro agente antioxidante que mostrou resposta satisfatória como protetor local da mucosa bucal, quando do tratamento da

radioindução. Demonstrou ser protetora das glândulas salivares e ter potencial para proteger a mucosa bucal em combinação com a carboplatina (VACHA *et. al.*, 2003; BUENTZEL *et. al.*, 2006). Porém não houve comprovação suficiente para sua inclusão no guia MASCC/ISOO (LALLA, SONIS e PETERSON, 2008).

A hipossalivação acarreta desconforto e cuidados, podendo agravar a inflamação tecidual, aumentando o risco de infecção local e tornando a mastigação mais difícil. Para abrandar esta sintomatologia são indicados além da saliva artificial, consumo constante de líquidos, chicletes sem açúcar e os enxaguatórios (LALLA, SONIS e PETERSON, 2008). A xerostomia provocada pela radiação é de rápida instalação, o fluxo salivar decai cerca de 57%, após a primeira semana e 76%, depois de seis semanas, em três anos pode chegar a redução de 95%. O pH salivar diminui para cinco ou quatro (JOHNSON *et. al.*, 1993). Para seu tratamento foi preconizada a administração de pilocarpina via oral, 5mg, três vezes ao dia, durante a radioterapia, como efetivo agente para tratamento da xerostomia, que pode aparecer de forma transitória ou permanente, aumentando o fluxo salivar e reduzindo a severidade dos sintomas (SPIKERVET *et. al.*, 1991). Este antagonista colinérgico estimula a secreção salivar, com rápido aumento do fluxo e o nível de pico mantido por uma a duas horas. Como efeito adverso mais comum do uso da pilocarpina foi observado a sudorese. Nenhuma evidência de intolerância à droga foi verificada durante sua administração prolongada por mais de cinco meses. Em estudo comparativo entre a ação da pilocarpina e da saliva artificial, como medidas para diminuição da xerostomia e restabelecimento da barreira natural na microbiota, os autores concluíram que os enxaguatórios bucais contendo pilocarpina a 5mg mostraram-se mais eficientes (DAVIES e SINGER, 1994).

A redução do fluxo também se relaciona com a dose, a duração da terapia e se reflete no processo da inflamação e nas alterações degenerativas provocadas nas células salivares e do ducto que têm seu arranjo celular normal substituído por resíduos do ducto, tecido conjuntivo fibroso e infiltrado linfoplasmocitário (SCARANTINO *et. al.*, 2006).

A descontaminação bucal é fator essencial na diminuição do aparecimento e severidade da MB. Foi hipotetizado que a colonização microbiana nas lesões exacerba sua severidade, então por sua vez, a descontaminação da cavidade bucal pode ajudar a reduzi-la (LALLA, SONIS e PETERSON, 2008).

Para o controle do aumento da microbiota bucal preconizou-se o uso de clorexidina (CHX), com polimixina E, tobramicina e anfotericina B associados, pois a saliva dificulta a ação da CHX e esta reduz a aderência de bactérias nas células da mucosa bucal. Já o propanteline, agente anticolinérgico causador de inibição do fluxo salivar e xerostomia, foi pesquisado para uso pós-QT com etoposide, pois é sabido ser uma droga muito excretada pela saliva. Com seu uso foi verificada diminuição do aparecimento e severidade da MB (AHAMED *et. al.*, 1993).

Resultados favoráveis foram encontrados com o uso tópico de CHX na mucosa bucal como medida efetiva de controle da mucosite, com a redução de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp. na microbiota (EPSTEIN *et. al.*, 1991). O uso de enxaguatórios bucais a base de CHX reduz a colonização bacteriana e fúngica na cavidade bucal (ADDY e MORAN, 1997). Estas bactérias gram negativas tem papel na patogênese da MB, controladas podem prevenir e diminuir sua severidade (WIJERS *et. al.*, 2001). Nos últimos anos novas formulações com CHX foram desenvolvidas com o intuito de diminuir seus efeitos secundários, como exemplo a retirada de álcool. Para aumentar seu efeito antimicrobiano houve a adição de outros agentes, como o cloreto de cetil piridínio (CPC) (HERRERA *et. al.*, 2003; PITTEN *et. al.*, 2003). Pode-se associar a CHX à nistatina e ao cetoconazol para o combate dos fungos oportunistas. Edulcorantes, pastilhas bucais contendo glicerina e um substituto da saliva a base de carboximetilcelulose, sorbitol e sais foram indicados para alívio da sintomatologia, cobrindo e lubrificando a mucosa bucal. Alimentos com molhos, caldos, leite e fluidos que auxiliem umedecendo os alimentos e assim facilitem a mastigação e deglutição também são recomendados (LANZÓS *et. al.*, 2010).

Como medida auxiliar na remoção de células necróticas, que servem de substrato para manutenção dos microrganismos indesejáveis na microbiota bucal, a higiene por bochechos com soluções antisépticas é indicada (PINDBORG, 1993). Mas, atualmente já não se recomenda nenhuma solução com base alcoólica e mesmo a CHX, está contraindicado seu uso tópico no caso das lesões de mucosite presentes na cavidade bucal, não sendo uma recomendação do guia MASCC/ISOO (KEEFE *et. al.*, 2007; RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010).

Metabólito do alopurinol, a oxypurinol, inibe enzima envolvida na síntese da pirimidina, que por sua vez leva ao acúmulo intracelular de ácido orático. Este composto inibe a ativação do 5-FU para monofosfato fluorouracil e assim, diminui a toxicidade do 5-FU (LOPRINZE *et. al.*, 1990). Se por um lado em estudo piloto realizado apresentou benefícios na administração de enxaguatórios à base de alopurinol, a NCCTG examinou aumento nas taxas de mucosite induzida por 5-FU em pacientes que fizeram uso de enxaguatório com a mesma base (BLEYER, 1990).

Com atenção ao fato da mucosite ser essencialmente influenciada pela infecção e como medidas de desinfecção, para diminuição da severidade, bochechos com iodo-povidona (1:8) diluídos em 100ml de água esterilizada foram sugeridos quatro vezes ao dia. Método fácil, barato e seguro, além de eficiente em regimes RT/QT (ADAMIETZ *et. al.*, 1998). Em estudo multicêntrico randomizado e em regimes de altas doses de QT, quando comparado a enxaguatório bucal salino, mostrou controle sobre a MB (VOKURKA *et. al.*, 2005).

Foi sugerida a utilização de sucralfato, com o uso de enxaguatórios para diminuir intensidade e desconforto bucal. Por ser um método pouco oneroso e fácil de administrar, sem efeitos colaterais sérios, pode ser usado rotineiramente (CENGIZ *et. al.*, 1999; NOTTAGE *et. al.*, 2003).

A camomila (*Matricaria chamomilla*) e seus efeitos benéficos já foi motivo de simpósio (KLASCHKA e MEDIANO, 1987). Seus agentes medicinais ativos

como camazulene, a- bisabolol, oxido de bisabolol, espiroéteres e flavonóides indicados como agentes medicinais por séculos pelas propriedades antifúngicas, antibacterianas e anti-inflamatórias; também foi indicada em MB. Em estudo fase III foi comparada com enxaguatório bucal placebo, a camomila não representou efeito mucosite inibitório (FIDLER *et. al.*, 1996). O efeito do mel de abelhas também foi testado, mas não mostrou evidências comprobatórias para emprego em estudo preliminar (BISWAL, ZAKARIA e AHMAD, 2003).

A crioterapia também é indicada nos regimes de quimioindução de MB, pois com o frio há a diminuição do fluxo sanguíneo local reduzindo assim a concentração de agentes quimioterápicos na mucosa bucal; como examinado na pesquisa desenvolvida para prevenção de mucosite causada pelo quimioterápico 5-FU (ROCKE *et. al.*, 1993, RABER-DURLACHER *et. al.*, 2010). O grupo NCCTG conduziu estudos em 95 pacientes sob regime de QT à base de 5-FU e foi pontuada uma redução de 50% de mucosites com a crioterapia (MAHOOD *et. al.*, 1991).

2.2.1.1 Fotobiomoduladores LASERs e LEDs

O laser de hélio-neônio foi utilizado para prevenir mucosite, quando se fez referência de que além deste procedimento ser muito bem tolerado em todos os casos, também reduz significativamente a dor da mucosite pós-RT e QT (COWEN *et. al.*, 1997). Os estudos se multiplicaram na área de fotobiomodulação tecidual e hoje tanto as luzes lasers quanto os diodos LEDs, constituem foco crescente de investigação (WHELAN *et al*, 2002; EDUARDO, 2003; FREIRE, 2004; MIGLIORATI, OBERLE-EDWARDS e SCHUBERT, 2006; KELNER e CASTRO, 2007; SACONO, 2007).

Os processos envolvidos na fotobiomodulação a laser, já estudados desde o século passado, têm comprovadamente a capacidade de estimular a

proliferação celular em culturas, modelos animais e quando clinicamente testados (ABERGEL *et. al.*, 1986,1987; CONLAN, RAPLEY e COBB,1996; BAGNATO *et. al.*, 2008; PINHEIRO *et. al.*, 2010). As técnicas fotônicas atuam de maneira a favorecer o processo cicatricial em regiões de hipóxia, isquemia e infectadas, onde funcionam como organizadores celulares, promovendo a biomodulação dos tecidos pelo incremento da circulação sanguínea local, o que por sua vez estimula mitoses celulares, oxigenação via citocromo C oxidase, angiogênese, produção de fibroblastos e síntese do colágeno (MESTER *et. al.*, 1973, 1978; SMITH, 1991; KARU, 1989, 1999, 2003).

O laser tem as propriedades de monocromaticidade, coerência e colimação. A primeira diz respeito aos fótons de mesmo comprimento de onda, coerência significa mesmo comprimento de onda se propagando na mesma direção em fase no tempo e no espaço e colimação ou direcionalidade, são fótons emitidos em uma única direção e sem divergências significativas. A polarização é verificada em alguns sistemas lasers e pode ser conseguida através de filtros polaróides ou outros componentes ópticos. O feixe de luz laser teve suas primeiras aplicações nas áreas biomédicas com o uso dos efeitos térmicos, quando a energia dos fótons absorvidos se transforma em calor, devido às altas potências de alguns tipos de lasers usados para coagular ou vaporizar tecidos biológicos (ZEZELL, 2001; RIBEIRO e ZEZELL, 2004).

Os lasers de baixa potência, laserterapia, *soft lasers*, lasers de baixa intensidade modificada, lasers terapêuticos, LILT, LLLT, (*low-intensity laser therapy*), laser de bioestimulação ou de biomodulação, são utilizados excluindo-se a possibilidade de manifestação dos efeitos térmicos, e a interação da luz com o tecido poderá promover alterações que culminem em efeitos analgésicos, antiinflamatórios, antiedematosos e cicatrizantes (CRUANES, 1984; TRELLES, 1990; LIZARELLI E MACIEL, 2008). Ainda não há padronização em sua nomenclatura e atualmente o termo fotobiomoduladores caracterizam melhor estes lasers (PINHEIRO *et. al.*, 2010).

No espectro de absorção de um sistema biológico a radiação pode ser absorvida para produzir uma mudança física e/ou química e consequente resposta biológica observável; a depender do comprimento de onda, dose ou fluência (densidade de energia), intensidade (densidade de potência), regime de operação do laser, taxa de repetição ou frequência do pulso e características ópticas do tecido, como o coeficiente de absorção e espalhamento, para que se possa estabelecer o número de tratamentos e dose ótima de radiação para cada quadro específico, motivo pelo qual se encontra dificuldade em padronização dose/afecção, (CRUANES, 1984; ABERGEL, GLASSBERG e UITTO, 1988; SMITH, 1991; RIBEIRO e ZECELL, 2004, MAS, 2010).

Os resultados da energia dos fótons absorvidos pelas células no tecido irradiado, ou seja, mecânica quântica de absorção, em terapias com laser biomoduladores são os efeitos fotoquímicos (células eucariontes e interior das mitocôndrias), fotofísicos (células procariontes na membrana citoplasmática) e /ou fotobiológicos, excluindo-se os efeitos térmicos. Estes efeitos resultam na ativação da microcirculação local, promovendo aumento da atividade fibroblástica, reduzindo ou eliminando edemas, estimulando linfócitos, ativando mastócitos, aumentando a produção do hormônio ACTH, aumentando o ATP mitocondrial, e a proliferação celular, bem como incremento da atividade de síntese do DNA com estímulo à produção de RNA; assim, auxiliam de maneira significativa no processo de reparo tecidual e diminuição de quadros de dor, quando corretamente aplicados, como comprovaram diversos autores (MESTER *et. al.*, 1972, 1973 e 1978; BENEDICENTI, 1982; MAYAYO, 1984; SMITH-AGREDA *et. al.*, 1986; ABERGEL *et. al.*, 1986, 1988; BRADLEY, 1996; KARU, 1989, 1995 e 1999; BAGNATO *et. al.*, 2008; PINHEIRO *et. al.*, 2010).

Em se analisando as três fases do processo de reparo tecidual: a primeira de perda do substrato, a segunda de proliferação celular e a terceira de remodelação tecidual; os estudos sugerem que o efeito biomodulador do laser promova desencadeamento primário da fase de proliferação celular do processo cicatricial. Tem sido demonstrado que a luz vermelha age

primeiramente na membrana celular, reequilibrando seu potencial; enquanto que a luz laser infravermelha interage com as mitocôndrias e aumenta o metabolismo da cadeia respiratória, o que por sua vez aumenta a força próton-motora, interferindo no potencial elétrico da membrana mitocondrial, na acidez do citoplasma e quantidade de ATP intracelular (KARU, 1989; TAMURA, 1993; LIZARELLI e MACIEL, 2008). Sequencialmente toda uma cadeia de eventos intracelulares é estimulada como o aumento do H⁺ intracelular, provocando mudanças na bomba de Na⁺ e K⁺, que por sua vez altera a permeabilidade dos íons de Ca²⁺ para o meio intracelular elevando o nível de nucleotídeos cíclicos, que modulam a síntese de DNA e RNA. Como resposta verifica-se nas pesquisas a proliferação de fibroblastos, adesão e síntese de procolágeno e colágeno, estímulo de macrófagos, linfócitos, produção de matriz extracelular, assim como fatores de crescimento diversos, como KTF (Proteína transcricional de queratinócitos), TGF (fator de transformação do crescimento) e PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas) que continuam sendo estudados e elucidados (MESTER *et. al.*, 1973 e 1978; LUBART *et. al.*, 1992; YU, NAIM e LANZAFAME, 1994; SOMMER *et. al.*, 2001, BAGNATO *et. al.*, 2008).

Na avaliação do tecido epitelial em modelo animal, após a fotobiomodulação percebe-se já no terceiro dia a aceleração do processo inflamatório agudo; no sétimo dia o epitélio torna-se acantótico com proliferação da camada basal e tecido conjuntivo denso, já se assemelhando a um processo inflamatório crônico. As células vacuolizadas com núcleo picnótico e tecido conjuntivo entram em normalização no décimo quarto dia, finalizando cicatrização com atrofia epitelial e fibrose tecidual no vigésimo primeiro dia e vigésimo oitavo do processo, quando histologicamente verificados os comprimentos de onda 660nm e 780nm (SILVA *et. al.*, 2007).

Foi mostrado que a luz laser incidindo perpendicularmente à superfície da pele, apresenta de 4 a 7% de reflexão difusa e o cálculo da fração que penetra na epiderme e derme é de 93 a 96% da luz incidente, quando sofre espalhamento ou absorção. Pode-se ressaltar ainda que em comprimentos de onda na faixa de 590µm e 1.5µm a profundidade de penetração no tecido varia

entre 2 a 8mm e o espalhamento predomina sobre a absorção da luz (CASTRONUOVO e GIAVELLI, 1992). Pesquisas são encontradas para avaliação do espalhamento da luz com medidas de espectroscopia (CHANCE *et. al.*, 1988; BEAUVOIT e CHANCE, 1994; BEAUVOIT *et. al.*, 1995) e demonstraram que a maioria dos fótons em comprimentos de onda de 630 a 800nm viajam aproximadamente 23 cm pela superfície da pele até o tecido muscular, cujo espectro foi estudado do punho, músculo flexor do antebraço e músculos da panturrilha, quando medido este espectro da penetração dos fótons.

Os lasers de baixa intensidade são usados com propósitos terapêuticos, ou para a bioestimulação, desde a década de 1960, por suas características de baixa intensidade de energia e comprimento de ondas capazes de penetrar nos tecidos (GROTH, 1993). O laser operando em baixa potência foi considerado por Mester em 1969, um bioestimulador, terminologia designada na literatura por um período de tempo, quando ainda não se conhecia muito bem seu mecanismo de ação, mas se observava seu excelente resultado terapêutico no tratamento de feridas e úlceras abertas, estimulando o processo cicatricial. Com o passar do tempo esta terapia começou a ser utilizada não só para estimular e acelerar processos, mas também para detê-los. Utilizada para remover excessos de pigmentos e restaurar a falta deles (SASAKI e OHSHIRO, 1989); tratar cicatrizes deprimidas e hipertróficas (STROG e BERTHIAUME, 1997); para aliviar a dor e fazer com que voltasse a sensibilidade em áreas de parestesia ou paralisia (ROCHKIND *et. al.*, 2007). Partindo-se de estudos clínicos e laboratoriais pode-se concluir que esta terapia não somente acelerava determinados processos, mas também retardava outros. Começou-se a entender o papel de modulador das funções celulares e a melhor expressão dos lasers de baixa intensidade seria a de biomodulador ou terapia fotobiomoduladora, sinônimo também mais recentemente sugerida (PINHEIRO *et. al.*, 2010).

Do ponto de vista físico, é útil definir a possível ação dos lasers em baixas potências como efeitos não térmicos. Destes são mais utilizados para

propósitos terapêuticos os de Hélio-Neônio (He-Ne), com comprimento de onda de 632,8nm e o de Arseneto de Gálio -Alumínio (GaAlAs), com comprimento de onda entre 780-830nm (RIBEIRO e ZECELL, 2004; SILVA *et. al.*, 2007)

Segundo o estado fisiológico da célula e o tecido onde está localizada, ela terá uma determinada resposta observável quando se emprega a energia a laser de baixa intensidade, estimulando sua membrana ou suas mitocôndrias e induzindo à biomodulação propriamente dita, ou seja, normalização da área afetada. Por este motivo a LILT tem como principais indicações: quadros patológicos de pós-operatório, reparação de tecido mole, ósseo e nervoso, quadros edematosos e de dores crônicas e agudas; quando se busca através da técnica mediação dos processos inflamatórios, maior rapidez e qualidade nos processos de reparação tecidual (BRADLEY,1996, PINHEIRO *et. al.*, 2010).

Os LEDs têm como diferença básica sobre os lasers, que emitem luz coerente, formada em cavidade ressonante com inversão de população dos elétrons, promovendo assim amplificação da luz por emissão estimulada de radiação. A emissão de luz dos LEDs é difusa, não coerente, formada por junção do tipo P-N, feitos em pequeno chip de material semicondutor dopado. A escolha do semicondutor determinará o pico do comprimento de onda da emissão de fótons e a cor do LED, quando no espectro do visível. Como os lasers, para bioestimulação, os LEDs eleitos são os de comprimentos de onda de emissão vermelha (V) e infravermelha (IV). (WHELAN *et. al.*, 1999).

Para compreensão do efeito do LED no crescimento e proliferação celular foi medido radiograficamente *in vitro* a incorporação de timidina em várias linhagens de células tratadas com esta luz e em vários comprimentos de onda e níveis de energia. Em fibroblastos 3T3, derivados de células de pele de ratos, a resposta foi satisfatória para exposições a luzes lasers e LEDs (LUBART *et. al.*, 1992; YU W *et. al.*, 1994; WHELAN *et. al.*, 1999, 2000, 2001).

Com o tratamento a luz LED, foi encontrada especificidade desta irradiação para células em fase de crescimento. No experimento com culturas

de fibroblastos na concentração de 500 células/ parede e em osteoblastos, na concentração de 1×10^3 células/ parede, cultivados em pratos de 4cm^2 e, avaliada a síntese de DNA no segundo, terceiro e quarto dias, estas culturas após expostas a irradiação da luz LED ($4\text{J}/\text{cm}^2$ e $8\text{J}/\text{cm}^2$, 50mW , em λ 670, 728 e 880nm) houve aceleração do crescimento de fibroblastos e osteoblastos nas culturas de dois e três dias, durante a fase de crescimento celular, e não obtiveram alteração significativa nas culturas de células no quarto dia, fase estacionária do processo. Esta comparação foi considerada análoga, em modelos *in vivo* e, em organismos saudáveis, durante o processo cicatricial e regenerativo, sem produzir crescimento celular excessivo, ou qualquer transformação neoplásica (WHELAN *et. al.*, 2001)

Os protótipos de LEDs da NASA demonstraram estimular os processos de energia básica das mitocôndrias de cada célula, particularmente quando irradiados na faixa do espectro IV próximo, quando são ativadas células sensíveis a este comprimento de onda, como cromóforos e sistema citocromo. Assim como os lasers, os LEDs podem ser utilizados para otimização no reparo de feridas em diversos comprimentos de onda que incluem 680, 730 e 880nm (BEAUVOIT e CHANCE, 1994; BEAUVOIT *et. al.*, 1995; LUBART *et. al.*, 1992; WHELAN *et. al.*, 1999, 2000, 2001, 2003; KARU, 2003). Em revisão dos avanços da terapia a LED (630-1000nm) foram comentados os efeitos do tratamento em processos fisiológicos e patológicos, como a aceleração cicatricial, melhora na recuperação de lesões isquêmicas do coração, atenuação da degeneração de injúrias ao nervo óptico; além de pesquisas *in vitro* e *in vivo*, onde foi demonstrado resultados confirmatórios dos efeitos positivos dos LEDs no IV próximo como um bom estimulador do metabolismo oxidativo mitocondrial, acelerando a reparação de células e tecidos em déficit oxidativo e podendo ser terapia eleita para inúmeras doenças relacionadas à disfunção mitocondrial (DESMET *et. al.*, 2006).

Em experimento analisando as células L-6, linhagem músculo-esquelética derivadas de ratos expostas à luz LED em comprimentos de onda combinados e individualmente analisados de 670, 728 e 880nm, com densidade de energia

de 4 e 8J/cm² e potência de 50mW os resultados demonstraram aumento de 140% na proliferação celular em relação ao grupo controle não irradiado, particularmente na fluência de 8J/cm² (WHELAN *et. al.*, 2001).

Em estudo duplo cego randomizado para controle da MB foi utilizado laser de He-Ne, com comprimento de onda de 632,8nm e potência contínua de 60mW, dez segundos por ponto com DE= 1,5J/cm², 15 aplicações em cinco regiões da cavidade bucal; irradiaram 30 pacientes que se submeteriam a altas doses de QT, em virtude de TMO e consequente instalação de quadros de mucosite. Concluíram que o tratamento foi bem tolerado e o método não apresentou efeitos colaterais. As aplicações reduziram o tempo e a severidade do pico, estatisticamente significante entre os dias d(+2) até d(+7) (dois dias até sete dias depois do TMO); reduziram a dor e duração de aplicação de morfina; a habilidade na deglutição foi melhorada; a cicatrização da ferida, um dos mais estudados efeitos da irradiação em baixa intensidade, obtiveram excelente resposta. A mucosite melhorou 46% nos lábios, 41% na gengiva, 36% na mucosa bucal e 27% na língua, região mais severamente atingida, assim como a mucosa jugal dos paciente irradiados (COWEN *et. al.*, 1997).

Em pacientes submetidos a RxT de cabeça e pescoço o desempenho do laser de He-Ne foi investigado com λ 632,8nm, P=60mW, irradiados 30 pacientes com carcinoma de orofaringe, hipofaringe e de cavidade bucal, que receberam doses de RxT fracionadas (65Gy na razão de 2Gy/fração, cinco frações por semana). Este estudo duplo cego teve duração sete semanas, com controle semanal quando medido o grau de mucosite conforme a escala OMS, com escala analógica para dor. O grau III ocorreu com freqüência de 35,2% para pacientes sem irradiação laser e 7,6% com administração do laser (p<0,01). A freqüência de dor severa, grau III, foi de 23,8% sem irradiação e de 1,9%, quando irradiados (p< 0,05). Com este estudo os autores concluíram que irradiações com laser em baixa intensidade reduziram a severidade e duração da MB em regimes de RxT (BENSADOUN *et. al.*, 1999).

Estudo piloto foi realizado com onze pacientes no hospital Sírio- Libanês, em São Paulo (MIGLIORATI *et. al.*, 2001) para controle da dor associada a MO em pacientes transplantados. O laser de meio ativo AsGaAl, Mucolaser®, λ 780nm, P=60mW, DE= 2J/cm², com sessões diárias de 35 minutos em toda a cavidade bucal, iniciadas d (-5) ao transplante d(0) e continuadas até d+5, pós-transplante. A severidade da MB foi clinicamente acompanhada usando-se a tabela da OMS; e a dor foi medida pela VAS. Como resultados os pacientes mostraram boa tolerância e melhora clínica; dois desenvolveram mucosite grau I-II, sete apresentaram grau III-IV e um não desenvolveu mucosite; quanto a dor, nenhum apresentou o máximo grau (10), seis obtiveram grau 0-3 e cinco apresentaram grau 4-8 (severa), no entanto a maioria dos pacientes associaram a aplicação diária do laser como satisfatória para o alívio da dor, nenhum interrompeu tratamento em virtude das lesões e não houve presença de infecção ou sangramento, apesar das altas doses de QT.

Utilizando laser de diodo, AsGaAl, foi realizado estudo duplo cego randomizado, em 70 pacientes submetidos a TMO, divididos em grupo placebo, grupo laser com comprimento de onda de 650nm, P=40mW e grupo laser com comprimento de onda 780nm, P=60mW, ambos os grupos com dose de 2,0J/cm² por sete dias. Verificou efetiva diminuição da severidade da mucosite e da dor, além de ser uma técnica segura e bem aceita pelos pacientes (EDUARDO, 2003).

Em pesquisa sobre a MB e utilização de fotobiomodulação a laser, pacientes sob regime de QT à base de 5-FU, foram investigados nos protocolos controle, terapêutico com fluência de 7,5 J/cm² distribuídos na área da lesão e preventivo com fluência de 6,0 J/cm² irradiados em 18 pontos da cavidade bucal, com diodo de meio ativo AsGaAl, λ 780nm, potência CW de 60mW e Φ 4,0mm². Participaram da pesquisa 60 pacientes em regime de QT à base de 5-FU, mono ou poliquimioterapia. A fotobiomodulação laser resultou na diminuição da dor e efeito cicatricial das lesões de mucosite, além de melhorar a autoestima e os cuidados de higiene dos pacientes em tratamento com a fotobiomodulação do laser (FREIRE, 2004).

Utilizando modelo animal de QT para indução de mucosite em hamsters, à base de 5-FU nos dias zero e dois, nas doses de 90 e 60ml/Kg, respectivamente, e com a promoção de injúrias na mucosa nos dias três e quatro do experimento, foi avaliada fotobiomodulação laser (InGaAlP, CW, λ 683nm, 12J/cm² em cinco pontos da mucosa jugal direita e esquerda durante sete dias (Grupo I); Grupo II, sem tratamento e Grupo III, controle negativo, sem protocolo de indução de MO. A avaliação histopatológica com remoção das mucosas realizada nos dias zero, oito, 12 e 15 da pesquisa, nos Grupos I e II e clinicamente avaliadas as fotografias das mucosas jugais, quando o autor encontrou diferenças estatisticamente significantes na intensidade da MB e concluiu que o laser promoveu a redução da severidade da MB e acelerou a cicatrização das lesões, sem no entanto, prevenir seu aparecimento, porém o autor não utilizou de nenhum protocolo preventivo específico para este fim. (FERRARRI, 2005).

Outro protocolo de indução em hamsters de peso médio 150mg e oito semanas de vida foi realizado à base de 5-FU nos dias um e três, 100mg/Kg e 65mg/kg, respectivamente, com escarificação mecânica da mucosa jugal nos dias quatro e cinco. Os grupos foram divididos em dois grupos preventivos com aplicação de crioterapia na mucosa direita nos dia de QT, cinco minutos antes e dez minutos depois da injeção da droga e grupo laser meio ativo GaAlAs, CW, λ 660nm, P= 30mW, D=1,2Jcm², Φ 2mm², t=40s distribuídos em quatro pontos da mucosa, ambos realizados até o dia cinco do experimento e analisados até o dia 11, com sacrifícios nos dias três, seis, nove e 11 para exame histológico das mucosas. Os grupos terapêuticos tiveram início no dia cinco e divididos em grupo laser e grupo controle não tratado, quando o primeiro recebeu irradiações laser com os parâmetros já citados na mucosa jugal escarificada dos dias seis a dez, mortos nos dias seis, nove e 11, quando realizaram as análises histológicas. Estatisticamente concluíram que nos grupos preventivos o grupo laser apresentou MB mais branda em comparação ao grupo da crioterapia, com menor perda de massa corpórea e nos grupos laser terapêutico, cicatrização mais acelerada que o controle; também foi

notada maior formação de tecido de granulação e angiogênese nos grupos que passaram pela fotobiomodulação laser (FRANÇA, 2009).

Utilizando LEDs para prevenção de mucosite pacientes pediátricos submetidos a TMO, com dose de $4,0\text{J}/\text{cm}^2$, em 670nm, foram irradiados por via extrabucal em um lado da face, tendo o lado contra lateral como controle. A terapia com LED mostrou-se eficiente, com redução da mucosite e dor (WHELAN *et. al.*, 2002).

LEDs com ponteira acrílica de diâmetro de saída de 12,5mm, composto de seis leds, de comprimento de onda de 880nm e potência aproximada de 74 mW e dose de $3,6\text{ J}/\text{cm}^2$; foi utilizado em experimento (BICUDO, 2004), para tratamento em paciente com linfoma tipo Hodgkin, concluindo ser uma técnica segura e efetiva em mucosite.

Em estudo experimental (CUNHA, 2006) avaliou em ratos Wistars a formação óssea pós-RxT e utilização do laser de diodo com comprimento de onda de 780nm, potência CW de 40mW e dose de $100\text{J}/\text{cm}^2$; concluindo os benefícios da técnica comparando quatro grupos de pesquisa. Na avaliação do tecido ósseo de ratos, pós radioterapia na dosagem de 3000cGy, o grupo experimental recebeu sete sessões de fotobiomodulação a laser λ 780nm, P= 40mW, $100\text{J}/\text{cm}^2$ distribuídos em $5\text{ J}/\text{cm}^2$ na ferida cirúrgica a cada 48h iniciadas as sessões no dia da cirurgia no fêmur dos animais, quando os achados histológicos mostraram aumento do número de osteócitos ($p<0,0001$) e formação de canais de Havers ($p<0,0001$), com grande significância estatística, o que sinaliza indicação da técnica no controle de quadros de osteorradionecrose (ALMEIDA, 2006).

Em reparação óssea e cutânea, vários trabalhos são desenvolvidos também demonstrando o efeito do laser V (vermelho) e IV (infravermelho) nas lesões (PINHEIRO *et. al.*, 2003; WANDA e DORSETT, 2004; ENWEMEKA, 2006).

Com a utilização dos LEDs especificamente para irradiação em quadros de mucosite e reparo tecidual, encontram-se alguns estudos com resultados bem promissores da técnica (WHELAN *et. al.*, 1999, 2001, 2002 e 2003; WONG-RILEY *et. al.*, 2001).

Com LED de comprimento de onda 645nm +/-15nm, P=7,8 mW, DE=0,99J/cm² e energia total de 2,34J irradiados por cinco minutos três vezes ao dia, 12 pacientes oncológicos foram tratados de seus quadros de MB. A incidência e severidade avaliados e classificados diariamente por um período de sete dias consecutivos, os autores notaram também aspectos da deglutição, salivação, qualidade da voz e dor e concluíram nesta investigação ser uma terapia segura e capaz de reduzir a duração da MB em regimes de QT, pois houve aumento da cicatrização de 117% para 164%, com diminuição do tempo médio das lesões, sem efeitos colaterais e boa aceitação pelos pacientes (CORTI *et. al.*, 2006).

Avaliando em pesquisa animal o efeito do LED vermelho λ 630nm +/-10nm, P=160mW, DE= 12J/cm², Φ 0,8cm, por 37,5 segundos nas duas mucosas jugais dos hamsters, após indução com injeção IP de 5-FU nos dias zero e dois do experimento, nas doses de 90 mg/Kg de peso e 60 mg/Kg e escarificações na mucosa nos dias três e quatro. Os autores observaram nos intervalos de cinco, nove, 13 e 15 efetiva redução da severidade da mucosite induzida por QT em hamsters e na cicatrização das lesões, embora não tenha prevenido completamente o surgimento das mesmas (SACONO, 2007).

Comparadas as terapias LILT e LEDT (*Light Emitting Diode Therapy*) em lesão de tendões de aquiles de ratos, nos comprimentos e onda e protocolos: 685, 830nm/ 630, 880nm +/- 10nm, (15mW, CW, 6J/cm², Φ 0,0028 cm² / 25mW, CW, 6J/cm², Φ 0,2826 cm²), respectivamente, os espécimes foram irradiados a cada 24 horas por dez dias. Entre os grupos LEDs vermelho e infravermelho não houve significância estatística encontrada P>0,05, porém os autores encontraram diferença na resposta entre os grupos teste e controles (p<0,01). Afirmaram ainda melhores resultados nas irradiações com os grupos

infravermelhos λ 830 e 880nm, com melhor organização, agregação e agrupamento das fibras colágenas em análise microscópica por luz polarizada (BASTOS, LIZARELLI e PARIZOTTO, 2009)

Estudos demonstraram que os efeitos dos LEDs, com mesmos comprimentos de onda dos lasers terapêuticos, ou seja, na faixa de espectro eletromagnético do vermelho ao infravermelho próximo, apresentam os mesmos efeitos de bioestimulação e reparação tecidual, além de analgesia e efeito antiinflamatório. As pesquisas com LEDs são mais recentes, mas têm mostrado alternativa segura e mais barata, também visando o reparo tecidual (BASTOS, LIZARELLI e PARIZOTTO, 2009). Os LEDs emitem luz monocromática, em comprimentos de onda efetivos para o efeito cicatricial, apresentando vantagens sobre os lasers, por serem mais compactos, gastarem menos energia, serem mais leves e poderem ser montados um ao lado do outro, desta forma abranger uma maior área com diminuição do tempo de tratamento. Avaliados quanto à segurança pelo FDA, órgão norte-americano responsável pela regulamentação de medicamentos e equipamentos médicos, estes equipamentos receberam aprovação para uso terapêutico em humanos. (WHELAN *et. al.*, 2002).

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar clínica e histologicamente o efeito da fotobiomodulação a laser e LED na prevenção e tratamento da mucosite quimioinduzida por 5-FU, em hamsters.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Avaliar a ação da luz laser λ 660 e 780nm e da luz LED λ 670 e 850nm na prevenção e tratamento da mucosite quimioinduzida em dois tempos experimentais (sete e 14 dias).

-Observação clínica subjetiva das alterações no decorrer do experimento, verificação objetiva das perdas ponderais e graus de MB. Observação histológica da presença de tecido inflamatório, congestão vascular, necrose, fibrose e integridade epitelial dos espécimes.

4 METODOLOGIA

4.1 POPULAÇÃO E AMOSTRA

Da população de hamsters do Centro de Criação de Animais (CCA) da Escola de Medicina Veterinária da UFBA e do biotério do Instituto Oswaldo Cruz, participaram da pesquisa e do estudo piloto cento e vinte e oito animais, raça Syrian (*Mesocricetus auratus*) da linhagem dourada, adultos, peso médio de 150 gramas, machos e fêmeas, clinicamente saudáveis, entre seis a oito semanas de vida.

Durante o período experimental, os animais foram alimentados com ração Labina®, cuja ingestão foi controlada e hidratados com água *ad libitum*. Os hamsters foram pesados regularmente e mantidos em gaiolas etiquetadas de polietileno, em luz ambiente e temperatura de 22°C, no CCA e no biotério da Faculdade de Odontologia da UFBA. As gaiolas foram mantidas limpas e lavadas com água e sabão neutro, a cada dois dias, quando a serragem era trocada.

4.2 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto desta pesquisa foi avaliado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da UFBA e Comissão Interna do Laboratório de Experimentação Animal (LEA) da Faculdade de Odontologia da UFBA, sendo considerado aprovado para execução. A cópia do aceite encontra-se em anexo (ANEXO 1). Todos os procedimentos do experimento foram realizados de conformidade com a lei nº 11.794/08 (Lei Arouca), de vivissecção animal, vigente em todo território Nacional desde 08/10/2008.

4.3 COLETA E INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS

4.3.1 Grupos Experimentais

Os grupos de estudo foram divididos como mostra o quadro a seguir.

Quadro 1: Grupos experimentais do estudo (FREIRE, 2010).

GRUPOS EXPERIMENTAIS	Número total (n)	LASER V Grupo a 660nm (n)	LASER IV Grupo b 780nm (n)	LED V Grupo c 670nm (n)	LED IV Grupo d 850nm (n)
I QT d(-1) 7 dias	20	5	5	5	5
II QT d(-1) 14dias	20	5	5	5	5
III QT d(+3) 7dias	20	5	5	5	5
IV QT d(+3)14dias	20	5	5	5	5
Va Controle (+) 7dias	5	-	-	-	-
Vb Controle (+) 14 dias	5	-	-	-	-
Vc Controle (-) 7 dias	4	-	-	-	-
Vd Controle (-) 14 dias	6	-	-	-	-
Total	100	20	20	20	20

QT= quimioterapia; d(-1)= início da aplicação da luz laser ou LED, V (vermelho) ou IV (infravermelho) um dia antes da QT, grupos preventivos; d(+3) = início da aplicação da fotobiomodulação três dias depois da QT, grupos terapêuticos.

Assim um total de 20 grupos foram investigados nesta pesquisa:

- Grupo Ia, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a laser V (cinco irradiações) iniciada um dia antes da QT, e mortos no tempo experimental de sete dias.
- Grupo IIa, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a laser V (oito irradiações) iniciada um dia antes da QT, e mortos no tempo experimental de 14 dias .
- Grupo IIIa, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a laser V (três irradiações) iniciada um dia após última QT d(+3), e mortos no tempo experimental de sete dias.

- Grupo IVa, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a laser V (6 seis irradiações) iniciada um dia após última QTd(+3), e mortos no tempo experimental de 14 dias.
- Grupo Ib, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a laser IV (cinco irradiações). iniciada um dia antes da QT, e mortos no tempo experimental de sete dias.
- Grupo IIb, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a laser IV (oito irradiações) iniciada um dia antes da QT, e mortos no tempo experimental de 14 dias.
- Grupo IIIb, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a laser IV (três irradiações) iniciada um dia após última QT d(+3), e mortos no tempo experimental de sete dias.
- Grupo IVb, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a laser IV (seis irradiações) iniciada um dia após última QT d(+3), e mortos no tempo experimental de 14 dias.
- Grupo Ic, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a LED V (cinco irradiações) iniciada um dia antes da QT, e mortos no tempo experimental de sete dias.
- Grupo IIc, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a LED V (oito irradiações) iniciada um dia antes da QT, e mortos no tempo experimental de 14 dias.
- Grupo IIIc, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a LED V (três irradiações) iniciada um dia após última QT d(+3), e mortos no tempo experimental de sete dias.
- Grupo IVc, composto por cinco animais submetidos à quimioterapia e fotobiomodulação a LED V (seis irradiações) iniciada um dia após última QT d(+3), e mortos no tempo experimental de 14 dias.
- Grupo Id, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a LED IV (cinco irradiações) iniciada um dia antes da QT, e mortos no tempo experimental de sete dias.

- Grupo IId, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a LED IV (oito irradiações) iniciada um dia antes da QT, e mortos no tempo experimental de 14 dias.
- Grupo IIIId, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a LED IV (três irradiações) um dia após última QT d(+3), e mortos no tempo experimental de sete dias.
- Grupo IVd, composto por cinco animais submetidos à QT e fotobiomodulação a LED IV (seis irradiações) iniciada um dia após última QT d(+3), e mortos no tempo experimental de 14 dias.
- Grupo Va (+) controle positivo, submetidos à QT e indução de MB, e mortos no tempo experimental de sete dias.
- Grupo V b (+), controle positivo, submetidos à QT e indução de MB, e mortos no tempo experimental de 14 dias.
- Grupo Vc (-), controle negativo e mortos no tempo experimental de sete dias..
- Grupo Vd (-), controle negativo e mortos no tempo experimental de 14 dias.

4.3.2 Procedimentos de Anestesia e Morte dos Animais

Durante a realização dos procedimentos os hamsters foram devidamente pesados em balança digital e sedados por via intraperitoneal com Quetamina (Ketamina® (10ml), Virbac do Brasil Ind. e Com. Ltda., Roseira, SP, Brasil) na dosagem de 0,08ml/100g, associado a Cloridrato de Xilazina (Virbaxyl® (10ml), Virbac do Brasil Ind. e Com. Ltda., Roseira, SP, Brasil) na dosagem de 0,04ml/100g, ambos de uso veterinário.

Para a morte, os animais receberam dose letal de analgesia, de aproximadamente 2 a 3 ml por animal.

4.3.3 Realização da Quimioterapia

Os animais receberam o quimioterápico Fluoruracila® (5-FU), Eurofarma Laboratórios Ltda., lote 146696 A, solução injetável (25mg/ml), *in bolus*, na dosagem de 90mg/Kg, dia zero da pesquisa, e 60mg/kg, no dia dois (Fig. 1B); via intraperitoneal, com adaptações do modelo desenvolvido por Sonis *et al.*, 1990.

4.3.4 Indução da Mucosite Bucal

Com o intuito de induzir o aparecimento da MB, ranhuras foram realizadas com uma pequena escova confeccionada para este fim, com fio ortodôntico inoxidável número 0,8mm (Morelli® - São Paulo, SP, Brasil) e base de acrílico autopolimerizável (Jet®, Artigos Odontológicos Clássico Ltda., São Paulo, SP, Brasil). Foi utilizada de forma firme e constante por quatro vezes consecutivas, nos dias três e quatro do experimento, na bolsa jugal do lado direito dos animais, a fim de se obter uma ferida mecânica e induzir ao aparecimento mucosite por quebra de continuidade da mucosa, mimetizando um trauma oclusal em humanos (Fig. 1A). Este modelo foi descrito e desenvolvido por Sonis *et al.*, 1990. Para este estudo foram feitas adaptações pertinentes em virtude dos tempos experimentais.

4.3.5 Fotobiomodulação a laser e LED

O início da aplicação das luzes lasers e LEDs ocorreram um dia anterior à realização da QT d(-1), para os grupos preventivos (Grupos a, b, c & d, subgrupos I e II) ou um dia após o final da QT d(+3) (Grupos a, b, c & d, subgrupos III e IV). Tais aplicações foram realizadas na mucosa jugal direita evertida de cada animal, em contato direto com a mucosa, num total de três e cinco sessões, para os animais com sacrifício em sete dias e, seis e oito irradiações para os grupos com sacrifício em catorze dias. Todas as irradiações

foram executadas com intervalo de 48 horas entre as repetições. Essas informações são detalhadas no Quadro 2.

O aparelho de luz laser foi devidamente aferido, em 15/06/2009, com o medidor de potência da Thor Labs®, modelo (S121B), série 8100901, Alemanha. O equipamento LED também foi calibrado, garantindo corretas energias de entrega desta pesquisa.

Após anestesia, conforme descrição anterior, a mucosa jugal dos hamsters foi evertida e irradiada em contato, com as luzes lasers (Laser Twin Flex®) (Figs.1C e 1D) e LEDs (Fisioled®) (Figs. 1E e 1F), ambos da MMOptics, São Carlos, Brasil. Foram utilizados dois diferentes comprimentos de onda de cada fonte de luz, obedecendo aos seguintes protocolos:

- caneta laser de comprimento de onda 660nm (+/- 10), potência 40mW, com meio ativo semiconductor AlGaInP, emissão contínua, área do feixe 0,04mm², t=30", dose de 4,8J/cm² distribuídos em quatro pontos com 1,2J/cm² na mucosa jugal direita (Fig. 1C);

- caneta laser de comprimento de onda 780nm (+/- 10), potência 50mW, com meio ativo AsGaAl, emissão contínua, área do feixe de 0,04mm², t=30", na fluência de 6J/cm², distribuídos em quatro pontos com 1,5J/cm² na mucosa jugal direita (Fig. 1D);

- caneta LED, diodo vermelho 670nm (+/-10), potência 150mW, área de spot de 0,5cm, emissão contínua, energia total de 4,8J, t=16", DE=4J/cm² distribuídos centralmente na mucosa jugal direita (Fig.1E) e

- caneta LED, diodo infravermelho 850nm (+/-10), potência 150mW, área de spot de 0,5cm, emissão contínua, energia total de 4,8J, t=16", dose de 4J/cm² distribuídos centralmente na mucosa jugal direita (Fig 1F).

As doses de energia depositadas no tecido é medida física e controlada segundo a fórmula: $D (J/cm^2) = P (mW) \times t (s) / A (cm^2)$.

Para todos os procedimentos de irradiações de luz foram utilizados óculos de proteção específicos ao comprimento de onda do laser ou LED, para operador e auxiliar, assim como EPI adequado. As canetas eram envolvidas em papel filme descartável e higienizadas com álcool 70GL após utilização.

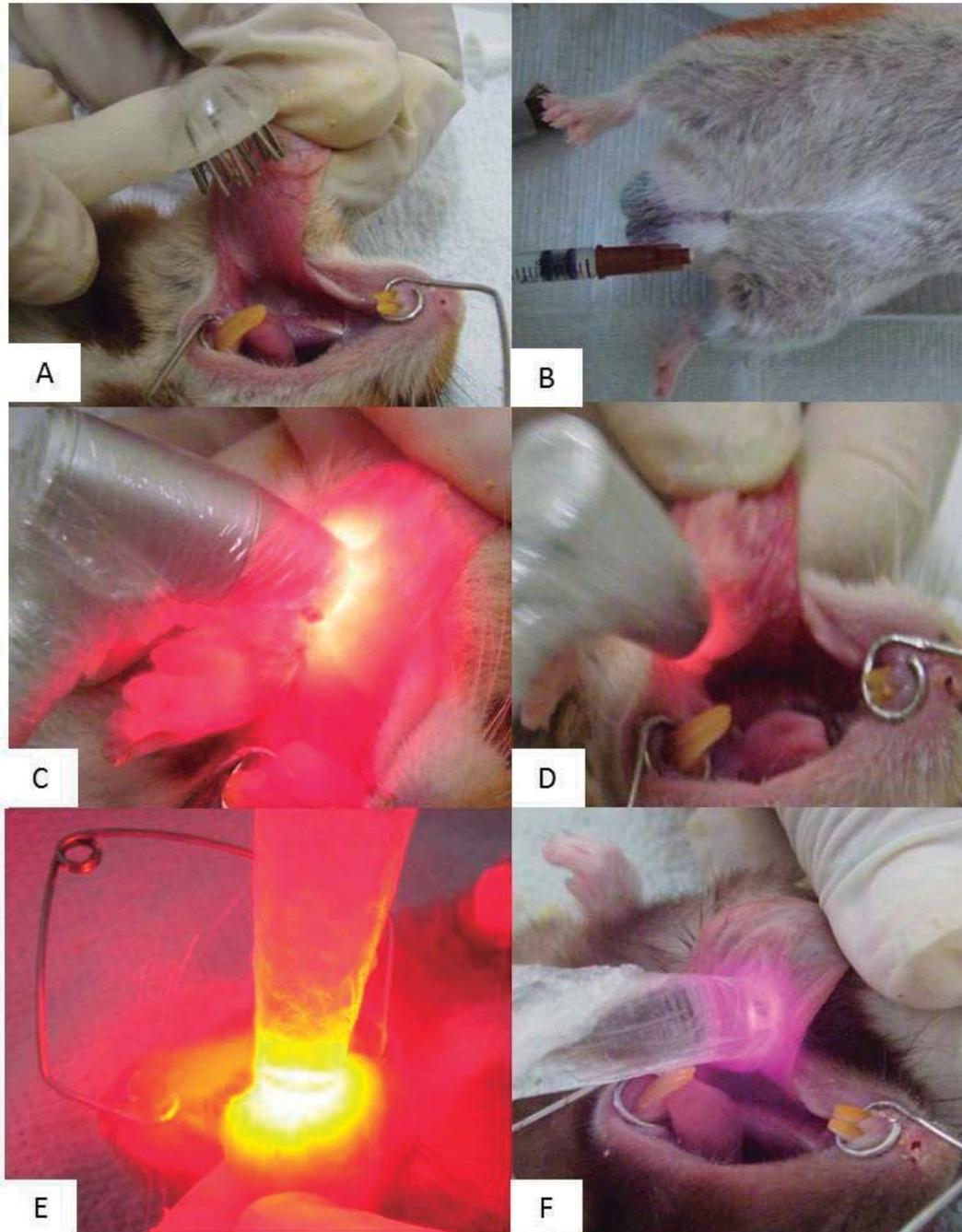


Figura 1 (A - F): A- Escarificação da mucosa jugal do hamster. B- Injeção intraperitoneal (IP) do quimioterápico 5-FU. C- Irradiação com lasers vermelho (V). D- Irradiação com laser infravermelho (IV). E- Irradiação com LED V e F-Irradiação com LED IV. (FREIRE, 2010).

4.3.6 Análises Clínica e Histológica

Análises subjetivas como as alterações cutâneas, alopecia, úlceras, foram observadas ao longo do experimento, bem como a ingesta alimentar, hídrica e atividades dos animais durante este estudo.

Como análises clínicas objetivas, a massa corporal dos animais foi aferida regularmente nos dias de experimento e a graduação da mucosite, avaliada em imagens confeccionadas com máquina digital Olympus® FE-150, 5.0 megapixel, quando os espécimes foram avaliados de maneira cega por examinadora calibrada experiente (Examinador um) e conforme os escores de MB para modelo animal, de acordo com a classificação de Sonis *al et., em 2000* (Figs. 2A a 2F), onde: Grau 0, mucosa saudável; Grau 1, presença de eritema leve, sem sinais de erosão; Grau 2, eritema severo, vasodilatação e erosão superficial; Grau 3, formação de úlceras em um ou mais locais, restritas a 25% da superfície total; Grau 4, formação de úlceras abrangendo 50% da região; Grau 5, completa ulceração da mucosa e perda de elasticidade/maleabilidade.

Após a constatação da morte dos animais pela ausência dos sinais vitais, a região de mucosa jugal direita, incluindo desde a sua superfície externa até a mais interna, foi dissecada e armazenada em recipientes plásticos contendo formol a 10%. Tais peças foram enviadas ao Laboratório de Patologia Cirúrgica Bucal do Departamento de Propedêutica e Clínica Integrada da FOUFBA, para confecção de lâminas, com cortes realizados por micrótomo manual com 5 μ de espessura e coradas pelas técnicas hematoxilina-eosina (HE) e picosirius. A avaliação foi feita por examinador calibrado (examinador dois), através de microscopia de luz (Eclipse E200®, Nikon), com aumentos de 40x, 100x e 1000x, com análise semi-quantitativa dos tipos celulares presentes, e então verificados a integridade epitelial da mucosa, presença e intensidade do infiltrado inflamatório, congestão vascular, fibrose e necrose; graduados em: ausente (0), discreta (1+), moderada (2+) e severa (3+) (APÊNDICE 1).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada análise descritiva dos achados histológicos. Adicionalmente a presença e intensidade dos tipos celulares ou dos critérios histológicos avaliados comparados pelo teste não paramétrico do Qui-quadrado, para uma probabilidade de erro de 5%. A massa corporal dos animais no início e final do período experimental também foi comparada pelo test t de Student para amostras pareadas, para uma probabilidade de erro de 5%.

Quadro 2: Detalhamento da rotina de aplicação das luzes no decorrer do estudo (FREIRE, 2010).

Grupos	d-1	d 0	d 1	d 2	d 3	d 4	d 5	d 6	d 7	d 8	d 9	d 10	d 11	d 12	d 13	d 14
I	L	QT	L	QT	Es/L	Es	L		I / M							
II	L	QT	L	QT	Es/L	Es	L		L		L		L		L	M
III		QT		QT	Es/L	Es	L		L/M							
IV		QT		QT	Es/L	Es	L		L		L		L		LI	M

d= dia; L= luz laser ou LED; QT= quimioterapia; Es= escarificação da mucosa; M= morte

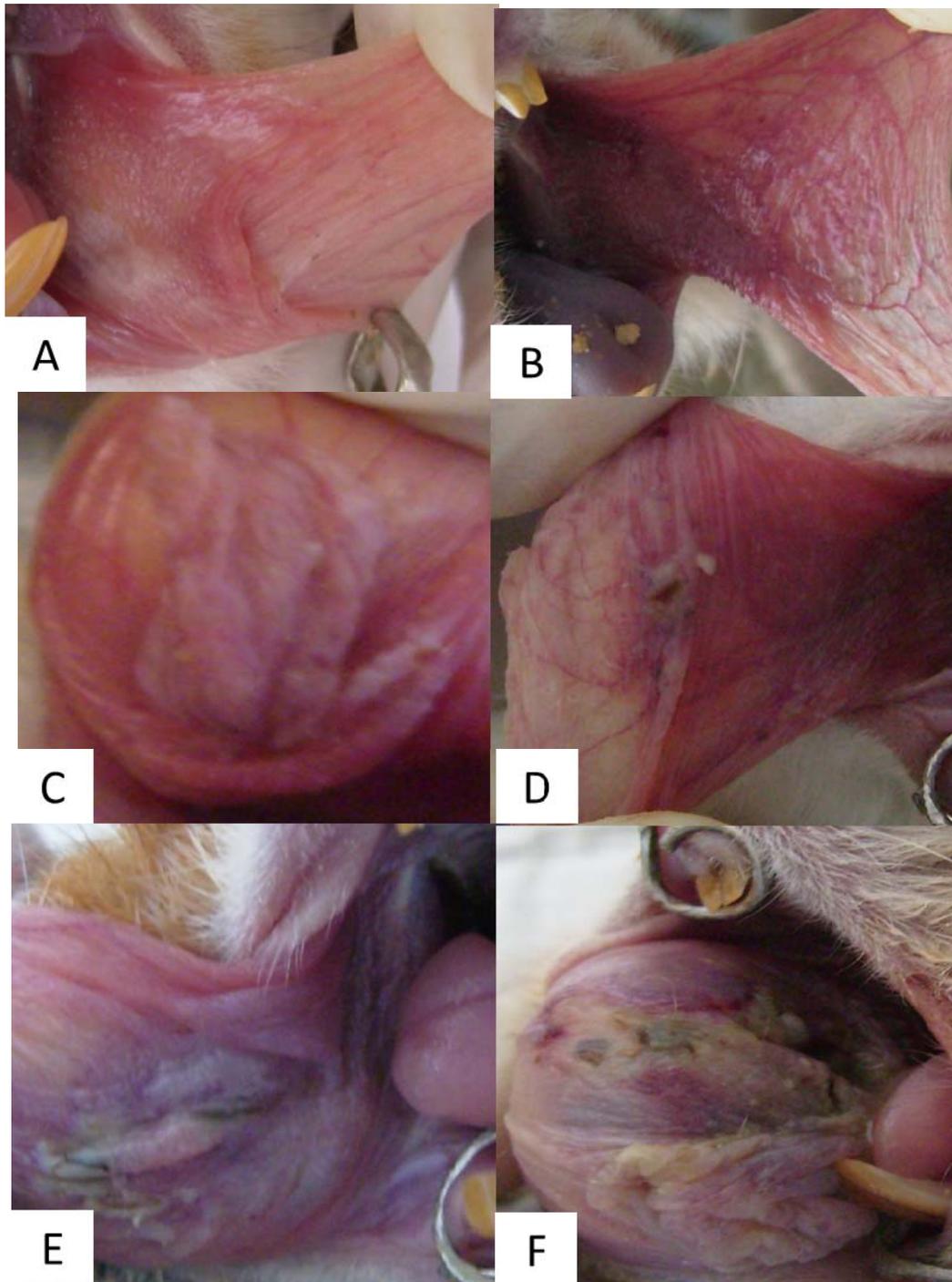


Figura 2 (A – F): Diversos graus de severidade da MB nos hamsters (Sonis *et al.*,2000). A- Ausência de lesão (grau 0). B- Mucosa hiperêmica (grau 1). C- Mucosa com eritema e lesão superficial (grau 2). D- Presença de pequena úlcera (grau 3). E- Úlceração (grau 4.) F- Úlceração (grau 5). (FREIRE, 2010).

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Os animais, após aplicação da metodologia descrita, foram avaliados clínica e histologicamente. Primeiramente, um estudo piloto com 20 animais foi realizado com intuito de estabelecer doses e lesões de MB, compatíveis com as QTs da atualidade, para verificação nos intervalos de sete e 14 dias do estudo. Do ponto de vista clínico geral, foi perceptível a perda de massa corpórea (avaliada quantitativamente), alopecia, inapetência, caquexia e diminuição da atividade dos animais submetidos à mucosite-indução.

A alopecia foi verificada já no terceiro dia após o procedimento quimioterápico, quando os pêlos tornaram-se quebradiços e soltavam-se frente à simples manipulação manual do corpo dos animais.

Nos animais que permaneceram vivos até o 14^o dia após o experimento, pode-se notar sensível melhora do seu estado geral; além de pequena melhora verificada da disposição da maioria dos animais após cada aplicação de laser ou LED.

Alguns animais morreram (8 animais) ao longo da metodologia, o que exigiu a aquisição de novos animais para substituí-los. A causa da morte não pôde ser claramente definida, mas provavelmente deveu-se ao elevado grau de toxicidade da 5-FU, ou ao grau de imunodeficiência por ela determinada, que facilitava a aquisição e disseminação de infecções. Ressalta-se que os animais foram mantidos em biotério apropriado, onde as condições sanitárias eram constantemente avaliadas e monitoradas, mas isso não impediu que em alguns animais fosse percebida a presença de infecções dermatológicas ou oftalmológicas. Tais animais foram excluídos da amostra.

A avaliação intrabucal nem sempre revelou a presença de úlceras, porém, áreas hiperêmicas por toda a mucosa bucal, posto que só houve a mucosite-indução em lado direito, para se obter menores graus de severidade da MB.

Notou-se acúmulo de restos alimentares, provavelmente pela diminuição do fluxo salivar e conseqüente impossibilidade do processo de autolimpeza da boca. Esta xerostomia medicamentosa foi observada subjetivamente pela diminuição da lubrificação e brilho das mucosas durante experimento. Devido a isso, para facilitar a eversão da mucosa jugal pós-experimento, fazia-se o gotejamento com água.

A avaliação clínica da mucosa jugal dos animais feita por examinador calibrado experiente (examinador um) revelou que nos grupos tratados com LASER e LED, a MB variou de grau um a quatro, como mostrado nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Número de animais de acordo com grau de MB, Sonis *et. al.* (2000), após avaliação clínica dos grupos experimentais lasers. (FREIRE, 2010).

Gradação da MB	Laser V (660 nm)				Laser IV (780 nm)			
	PREVENTIVO		TERAPÊUTICO		PREVENTIVO		TERAPÊUTICO	
	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias
Tempo experimental								
Grau 0	--	--	--	--	--	--	--	--
Grau 1	2	2	1	2	1	2	1	1
Grau 2	3	2	2	3	1	2	1	2
Grau 3	--	1	2	--	2	1	2	1
Grau 4	--	--	--	--	1	--	1	1
Grau 5	--	--	--	--	--	--	--	--

Tabela 2: Número de animais de acordo com grau de MB, Sonis *et. al.* (2000), após avaliação clínica dos grupos experimentais LEDs. (FREIRE, 2010).

Gradação da MB	LED V (670 nm)				LED IV (850 nm)			
	PREVENTIVO		TERAPÊUTICO		PREVENTIVO		TERAPÊUTICO	
	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias
Tempo experimental								
Grau 0	--	--	--	--	--	--	--	--
Grau 1	2	2	2	1	1	2	1	1
Grau 2	3	2	2	3	2	2	1	3
Grau 3	--	1	1	1	2	1	2	1

Grau 4	--	--	--	--	--	--	1	--
Grau 5	--	--	--	--	--	--	--	--

Nos grupos controle positivo, a variação dos graus de lesões de MB foram de dois a cinco (Tabela 3), também avaliados pelo mesmo examinador (1) e, nenhuma alteração nos grupos controle negativo.

Tabela 3: Número de animais de acordo com grau de MB, Sonis *et. al.* (2000), avaliação clínica dos grupos controle positivo.(FREIRE, 2010).

Graduação da MB	Grupos Positivo	Controle (n)
Sacrifício	7 dias	14 dias
Grau 0	---	---
Grau 1	---	---
Grau 2	3	2
Grau 3	1	2
Grau 4	1	---
Grau 5	---	1

A massa corporal de todos os animais foi monitorada regularmente; eles foram pesados no início dos dias experimentais e novamente antes dos seus sacrifícios. Observou-se que nos animais dos grupos controles positivos (passaram pelo processo de mucosite-indução, mas não foram submetidos ao tratamento com fotobiomodulação) que houve perda de massa corporal estatisticamente significativa (teste t de Student para amostras pareadas; $p < 0,05$) apenas nos animais mortos após 14 dias do tratamento quimioterápico. Já nos grupos controles negativos (que não receberam o 5-FU nem o tratamento com luz) a massa corporal dos animais aumentou, embora essa

diferença não tenha sido significativa (teste t de Student para amostras pareadas; $p > 0,05$). Esses dados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Massa corporal dos animais dos grupos controle-positivos e negativos, após sete ou 14 dias. (FREIRE, 2010)

Grupos controles	Que receberam QT		Que NÃO receberam QT	
	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias
Massa corpórea inicial (g)	175,5	144,0	135,0	126,7
Massa corpórea final (g)	157,0	130,3	144,0	131,3
Diferença (g)	-18,5 (10,54%)	-13,7 (9,51%)	+9 (6,67%)	+4,6 (3,6%)
Valor de p	0,06	0,02*	0,27	0,44

* diferença significativa ($p < 0,05$)

Nos animais dos grupos-testes, observou-se que a inapetência associada à debilidade causada pelo tratamento a que foram submetidos, determinaram uma acentuada diminuição da massa corporal ao longo do período experimental. Para facilitar a alimentação dos animais, a ração foi triturada, mas ainda assim houve diminuição da ingesta de ração.

Quando avaliados os grupos tratados com laser, observou-se que embora tenha havido perda de massa corporal em todos os grupos, houve um decréscimo significativo (teste t de Student para amostras pareadas; $p < 0,05$) quando estes foram sacrificados após sete dias, seja no tratamento com laser V ou IV, de forma terapêutica (três ou seis irradiações) ou preventiva (cinco ou oito irradiações). Notou-se ainda que nos animais tratados com laser vermelho, a perda de massa corporal foi menor nos animais sacrificados após 14 dias da QT, e nos tratados com laser infravermelho, a menor perda foi nos hamsters sacrificados após sete dias do tratamento com 5-FU. Esses resultados são exibidos na Tabela 5.

Tabela 5: Massa corporal dos animais que receberam 5-FU e foram tratados com luz laser V e IV, nos protocolos preventivos ou terapêuticos, sacrificados aos sete ou 14 dias após o início da QT. (FREIRE, 2010)

Λ	LASER VERMELHO (660 nm)				LASER INFRAVERMELHO (780 nm)			
	PREVENTIVO		TERAPÊUTICO		PREVENTIVO		TERAPÊUTICO	
Modalidade de tratamento								
Dia do sacrifício	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias
Massa corpórea inicial (g)	155,6	122,0	111,2	116,6	144,8	133,0	85,8	115,6
Massa corpórea final (g)	137,6	113,6	93,2	109,0	123,8	108,2	74,8	91,0
Diferença (g)	-18,0 (11,6%)	-8,4 (6,9%)	-18,0 (16,2%)	-7,6 (6,5%)	-21,0 (14,5%)	-24,8 (18,7%)	-11,0 (12,8%)	-24,6 (21,3%)
Valor de p	0,009*	0,35	0,02*	0,57	0,005*	0,09	0,03*	0,19

* diferença significativa ($p < 0,05$)

Nos animais que foram tratados com luz LED, observou-se que em todos os casos houve perda de peso, esta foi significativa (teste t de Student para amostras pareadas; $p < 0,05$), para aqueles tratados com o LED vermelho de forma preventiva e sacrificados após sete dias; para os tratados com luz LED vermelha de forma terapêutica e ainda em todos os animais tratados com LED infravermelha, seja ele aplicado de forma preventiva ou terapêutica, tanto nos animais sacrificados aos sete ou 14 dias. Notou-se ainda que os animais sacrificados após 14 dias obtiveram proporcionalmente uma menor perda de massa corporal que seus homólogos sacrificados após sete dias. Os dados são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6: Massa corporal dos animais que receberam 5-FU e foram tratados com luz LEDs V e IV, nos protocolos preventivos ou terapêuticos, sacrificados aos sete ou 14 dias após o início da QT. (FREIRE, 2010)

Λ	LED VERMELHO (670 nm)				LED INFRAVERMELHO (850 nm)			
	PREVENTIVO		TERAPÊUTICO		PREVENTIVO		TERAPÊUTICO	
Modalidade de tratamento								
Dia do sacrifício	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias	7 dias	14 dias
Massa corpórea inicial (g)	105,4	106,0	132,7	151,6	98,8	141,2	128,4	87,0
Massa corpórea final (g)	90,6	105,25	106,3	135,2	88,8	113,6	108,4	74,0
Diferença (g)	-14,8 (14,0%)	-0,25 (0,24%)	-26,4 (19,9%)	-16,4 (10,8%)	-10,0 (10,1%)	-27,6 (19,5%)	-20,0 (15,6%)	-13,0 (14,9%)
Valor de p	0,04*	0,8	0,2	0,004*	0,01*	0,02*	0,009*	0,04*

* diferença significativa ($p < 0,05$)

5.2 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Após a morte dos animais, suas mucosas jugais direitas foram removidas, armazenadas em formol a 10% e enviadas para análise histológica. Ressalta-se a anatomia peculiar desse tecido em hamsters. Nesses animais a mucosa jugal projeta-se para a cavidade bucal, formando uma bolsa. Na dissecação deste tecido toda a bolsa foi removida em sua base pediculada. A preparação histológica, então, foi realizada em quatro níveis para cada peça histológica, de modo que diferentes profundidades da bolsa pudessem ser avaliadas e totalizando 20 lâminas por grupo, com os respectivos resultados no apêndice 1. As lâminas foram coradas pelas técnicas hematoxilina-eosina e picrossirius e avaliadas por microscopia de luz por uma patologista médica

experiente (examinador dois). Os seguintes critérios foram analisados: integridade epitelial, inflamação, congestão vascular, necrose e fibrose.

A descrição dos achados histológicos em cada grupo estudado é informada a seguir.

Grupo I.a (laser vermelho preventivo, cinco irradiações – intervalo de sete dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria pode-se observar discreta fibrose e congestão vascular de intensidade predominantemente discreta. Muitos anexos cutâneos foram observados. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo II.a (laser vermelho preventivo, oito irradiações – intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria nota-se fibrose discreta em alguns espécimes e severa em outros, além de discreta congestão vascular e alguns focos de discreto infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo III.a (laser vermelho terapêutico, três irradiações – intervalo de sete dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria nota-se fibrose discreta a moderada. Adicionalmente observa-se discreta congestão vascular e focos com discreto infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocitário. Em um espécime infiltrado inflamatório agudo foi visualizado. Em outros foram visualizados raros focos de calcificação e áreas de necrose permeada por neutrófilos, de grau moderado a severo. Anexos cutâneos também foram encontrados em alguns casos. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo IV.a (laser vermelho terapêutico, seis irradiações – intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria observa-se fibrose de discreta a moderada. Em poucos espécimes foram observados discreta congestão vascular e focos discretos de infiltrado inflamatório linfo-

plasmocitário. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo I.b (laser infravermelho preventivo, cinco irradiações – intervalo de sete dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria nota-se fibrose discreta e congestão vascular de moderada a severa. Adicionalmente foram vistos focos de calcificação e discreto infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocitário. Em alguns espécimes pode-se observar focos de necrose e material vegetal. A presença de anexos cutâneos foi constante. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo II.b (laser infravermelho preventivo, oito irradiações- intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria pode-se observar discreta fibrose e de discreta a moderada congestão vascular. Foram observados também focos de calcificação e discreto infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocitário. Em alguns espécimes pode-se observar focos de necrose permeada por neutrófilos. A presença de anexos cutâneos foi constante. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo III.b (laser infravermelho terapêutico, três irradiações – intervalo de sete dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria observa-se fibrose e congestão vascular discretas, focos de calcificação e discreto infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocitário. Em um espécime foi encontrada necrose moderada permeada por neutrófilos. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo IV.b (laser infravermelho terapêutico, seis irradiações – intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria nota-se fibrose de discreta a

moderada. Em poucos espécimes foi observada congestão vascular discreta e focos de calcificação. Em um espécime discreto infiltrado inflamatório linfoplasmocitário foi observado assim como em outro um discreto foco de necrose estava presente. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo I.c (LED vermelho preventivo, cinco irradiações – intervalo de 7 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria observa-se fibrose de discreta a moderada. Em poucos espécimes foi observada discreta congestão vascular e em um espécime uma área de necrose moderada estava presente. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo II.c (LED vermelho preventivo, oito irradiações – intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria observa-se fibrose de discreta a moderada. Em um espécime uma área de discreto infiltrado inflamatório agudo estava presente. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo III.c (LED vermelho terapêutico, três irradiações – intervalo de sete dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria, em alguns espécimes verifica-se fibrose de discreta a moderada. Foram observados também focos de discreto a moderado infiltrado inflamatório predominantemente linfoplasmocitário, discreta congestão vascular e anexos cutâneos. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo IV.c (LED vermelho terapêutico, seis irradiações – intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria nota-se fibrose predominantemente moderada. Foram observados também focos de discreto infiltrado inflamatório linfoplasmocitário, na grande maioria dos casos, além de discreta congestão vascular. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo I.d (LED infravermelho preventivo, cinco irradiações – intervalo de sete dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria fina, nota-se fibrose de discreta a moderada. Foram observadas focos de discreto infiltrado linfoplasmocitário em alguns espécimes. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo II.d (LED infravermelho preventivo, oito irradiações – intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria nota-se fibrose de discreta a moderada e profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo III.d (LED infravermelho terapêutico, três irradiações – intervalo de sete dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, com perda de sua integridade em muitos espécimes. Na lâmina própria nota-se fibrose de discreta a moderada. Foram observadas também áreas de necrose, permeada por neutrófilos, de moderada a severa. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo IV.d (LED infravermelho terapêutico, seis irradiações – intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, com perda de sua integridade em muitos espécimes. Na lâmina própria observa-se fibrose de discreta a moderada. Foram observadas também áreas de necrose, permeada por neutrófilos, de discreta a severa, além de focos de calcificação. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo V.a (controle-positivo, submetido a QT – intervalo de sete dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria nota-se em alguns

espécimes fibrose discreta e discretos focos de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo V.b (controle-positivo, submetido a QT – intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria nota-se em alguns espécimes fibrose de discreta a moderada. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo V.c (controle-negativo, não submetido a QT – intervalo de sete dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

Grupo V.d (controle-negativo, não submetido a QT – intervalo de 14 dias)

Observa-se fragmento de mucosa constituído por tecido epitelial escamoso ceratinizado, íntegro. Na lâmina própria fina, nota-se em alguns espécimes fibrose de discreta a moderada. Profundamente uma espessa camada de tecido muscular estriado pode ser vista.

As figuras a seguir ilustram os aspectos acima descritos (Figuras 3 a 7).

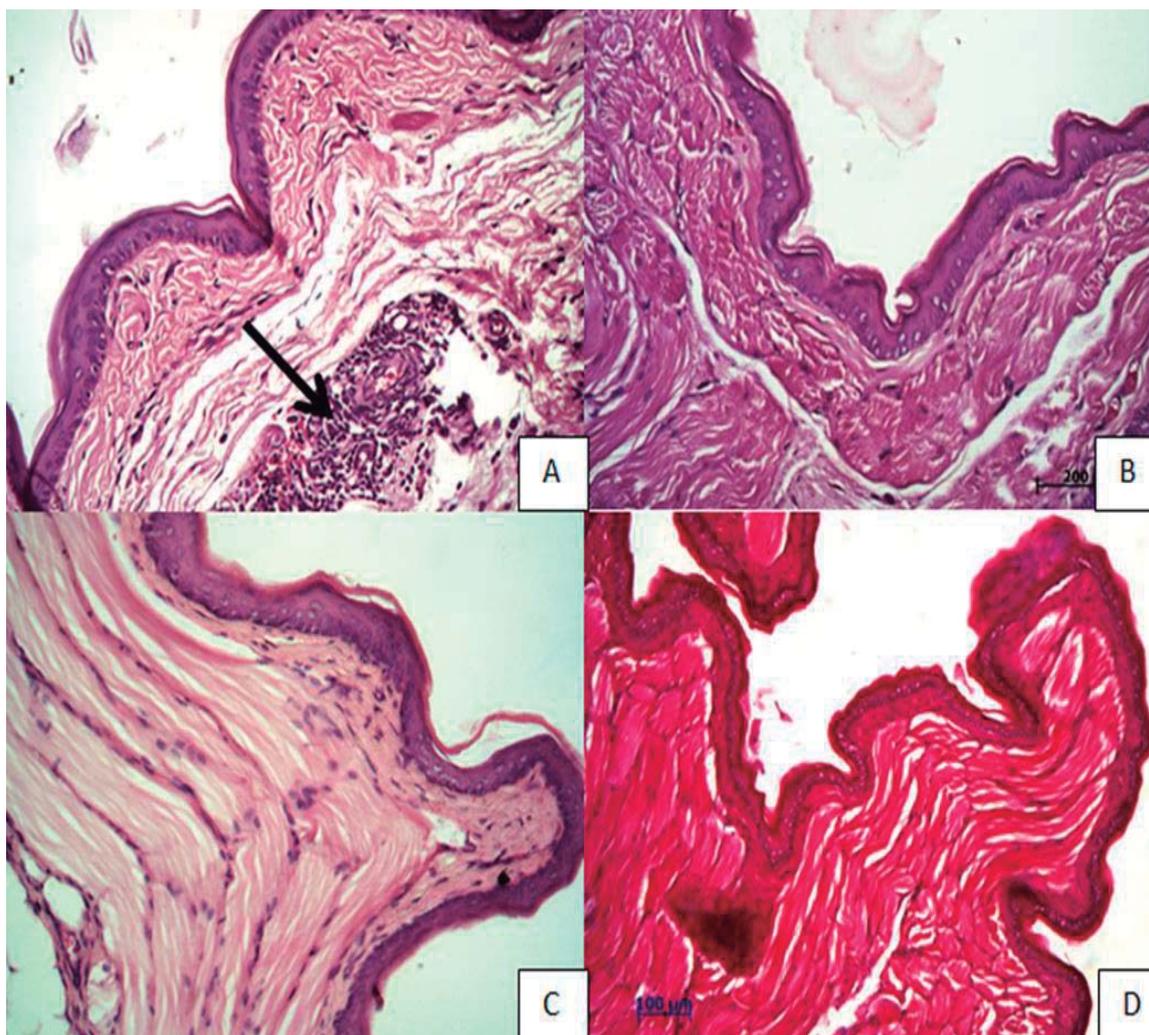


Figura 3 (A-D): Fotomicrografia dos espécimes dos grupos controle positivo, dos tempos experimentais de sete (A) e 14 dias (B), e controle negativo, dos tempos experimentais de sete (C) e 14 dias (D). A- Observa-se integridade da superfície epitelial, moderada fibrose e suave infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (seta estreita). HE 200x. B, C and D- Integridade da superfície epitelial e ausência de infiltrado inflamatório. D- Observa-se ainda grau moderado de fibrose. B e C- HE 200x. D- HE 100x. (FREIRE e ROCHA, 2011).

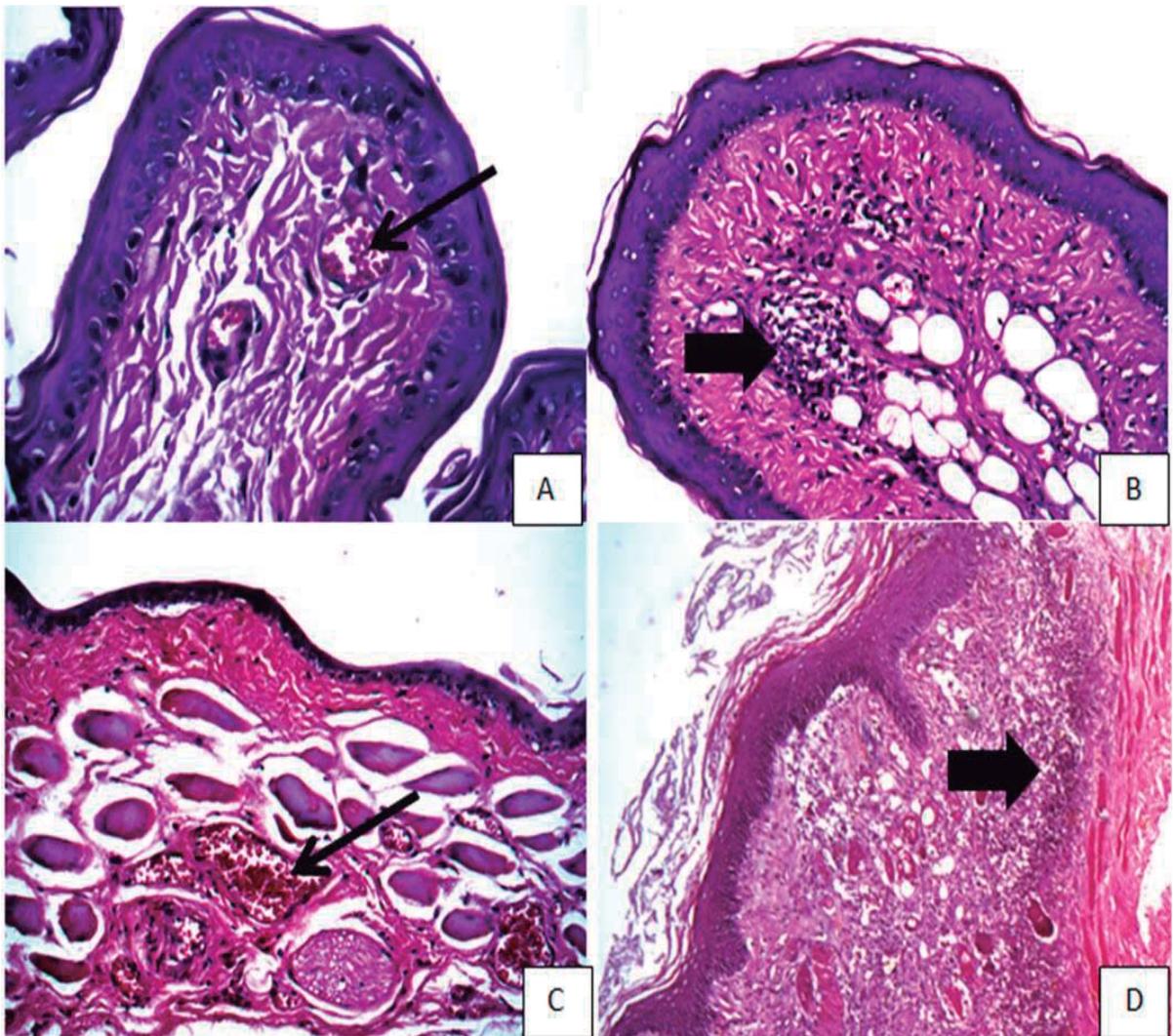


Figura 4 (A-D): Fotomicrografia dos espécimes dos grupos tratados com laser vermelho (660nm) sob o protocolo preventivo, dos tempos experimentais de sete (A) e 14 dias (B) e protocolo terapêutico, dos tempos experimentais de sete (C) e 14 dias (D). Nota-se: A- Integridade epitelial, fibrose moderada, discreta congestão vascular (seta fina) e ausência de inflamação. HE 200x. B- Integridade epitelial, fibrose moderada, congestão vascular moderada e discreto infiltrado linfoplasmocitário (seta larga). HE 200x. C- Integridade epitelial, fibrose moderada e vasos sanguíneos congestos (seta fina). HE 200x. D- Integridade no epitélio e severo infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (seta larga). HE 100x. (FREIRE e ROCHA, 2011).

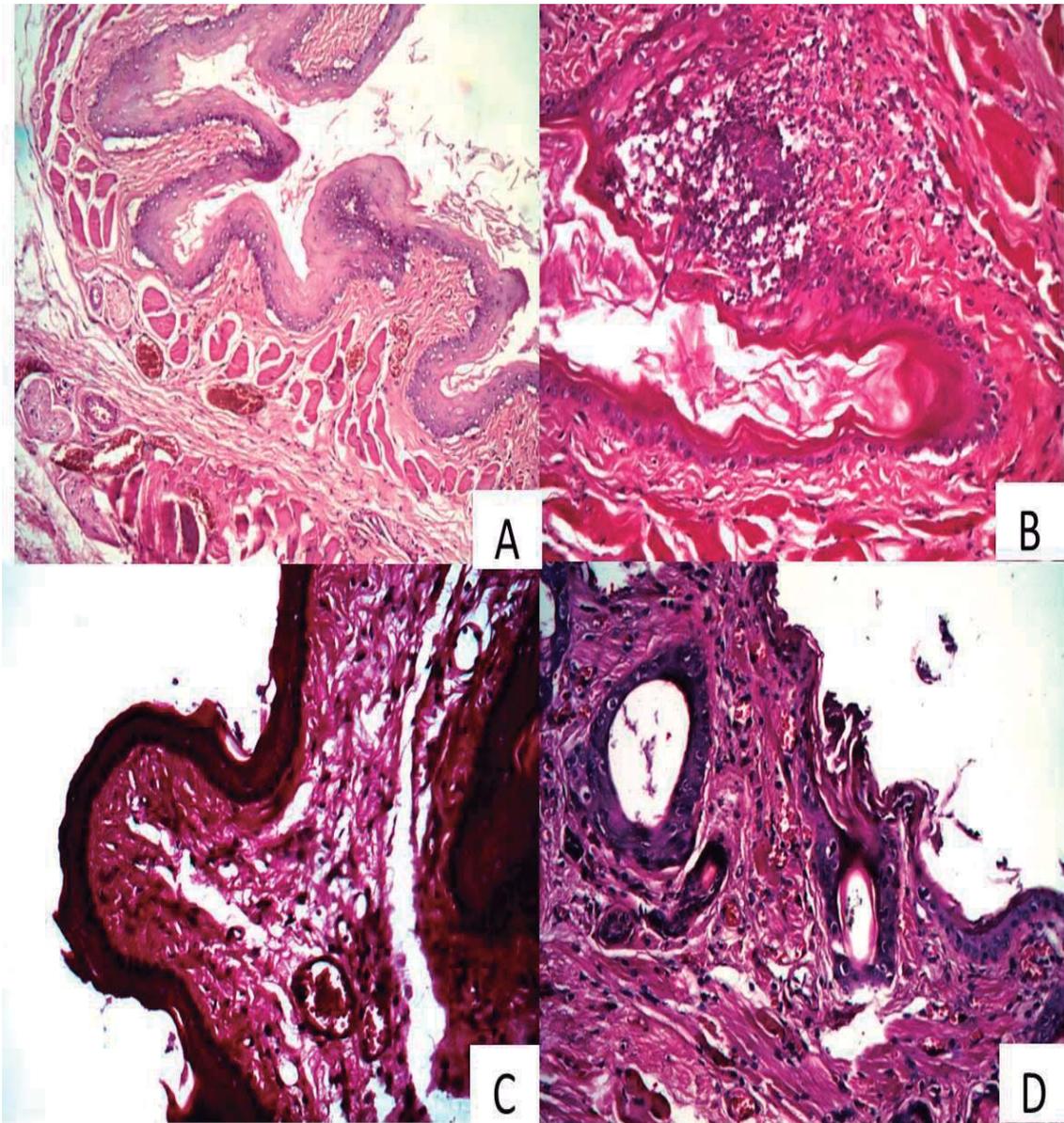


Figura 5 (A-D): Fotomicrografia dos espécimes dos grupos tratados com laser infravermelho (780nm) sob o protocolo preventivo, dos tempos experimentais de sete (A) e 14 dias (B) e protocolo terapêutico, dos tempos experimentais de sete (C) e 14 dias (D). A- Observa-se integridade epitelial e ausência de infiltrado inflamatório. HE 100x. B- Ruptura da superfície epitelial associada a focos de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. HE 200x. C- Integridade epitelial, moderada fibrose e poucos vasos sanguíneos congestos. HE 200x. D- Integridade epitelial e pequenos vasos sanguíneos congestos. HE 200x. (FREIRE e ROCHA, 2011).

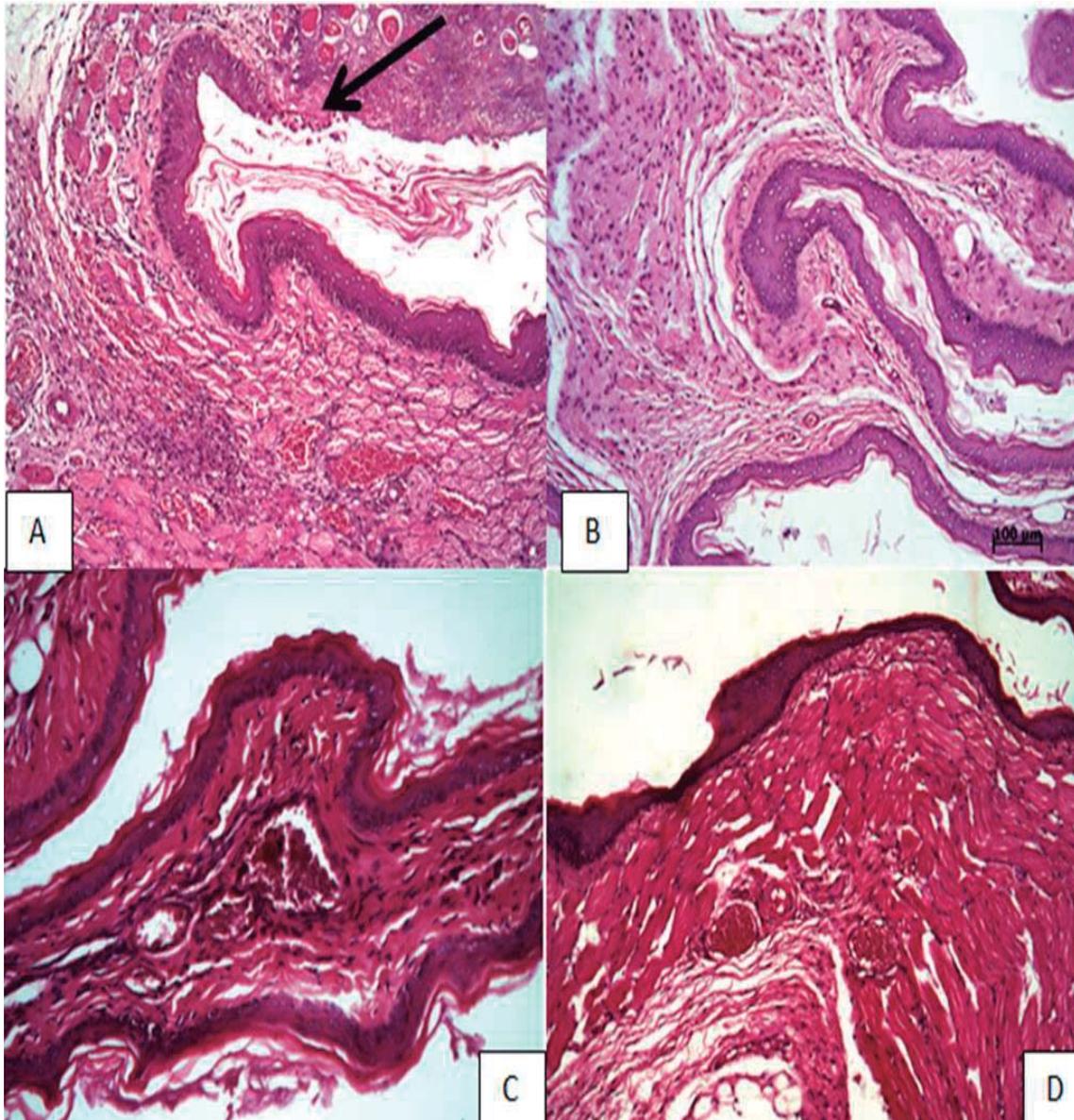


Figura 6 (A-D): Fotomicrografia dos espécimes dos grupos tratados com LED vermelho (670nm) sob o protocolo preventivo, nos tempos experimentais de sete (A) e 14 dias (B), e protocolo terapêutico, nos tempos experimentais de sete (C) e 14 dias (D). A- Observa-se perda parcial da superfície epitelial (seta larga). HE 200x. B- Integridade do epitélio e discreta fibrose. B- HE 100x. C e D- Moderado grau de fibrose. HE 200x. (FREIRE e ROCHA, 2011).

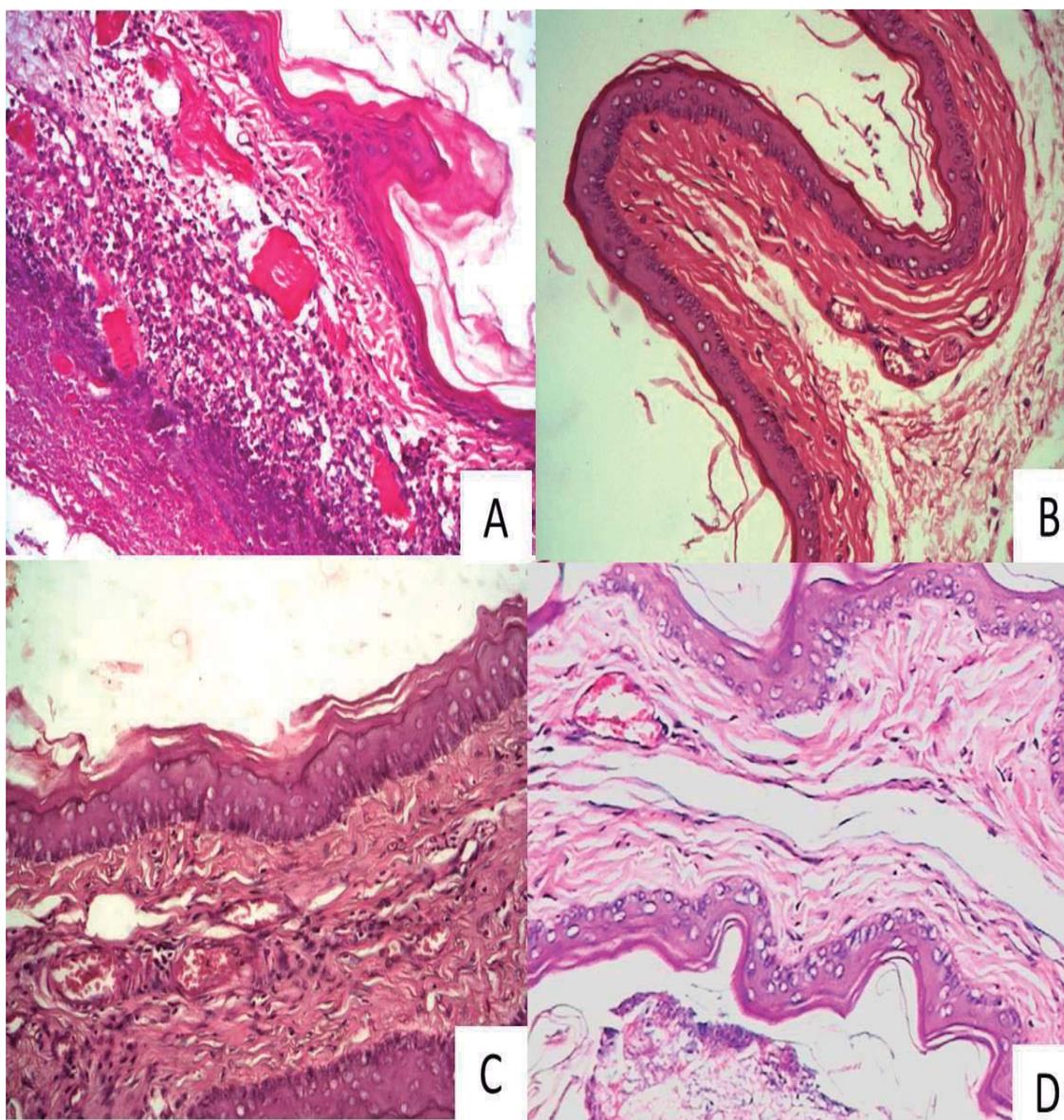


Figura 7 (A-D): Fotomicrografia dos espécimes dos grupos tratados com LED infravermelho (850nm) sob o protocolo preventivo, nos tempos experimentais de sete (A) e 14 dias (B), e protocolo terapêutico, nos tempos experimentais de sete (C) e 14 dias (D). A- Epitélio íntegro e presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. HE 100x. B e C- Observa-se integridade da superfície [epitelial, moderada fibrose e poucos vasos sanguíneos congestão. HE 200x. D- Integridade da superfície epitelial e discreto grau de fibrose. HE 200x. (FREIRE e ROCHA, 2011).

Os achados histológicos foram ainda mensurados de forma semiquantitativa, onde foram atribuídos os graus: ausente, discreto, moderado e severo; a cada parâmetro avaliado. Após isso, foi aplicado o teste Qui-quadrado, para uma probabilidade de erro de 5%. Os resultados encontrados são descritos na sequência.

Integridade Epitelial

O epitélio encontrava-se íntegro, na quase totalidade dos espécimes avaliados. Nos grupos tratados com LED infravermelho, de forma terapêutica, bentretanto, foi observada perda dessa integridade em 8 espécimes (40%) nos animais sacrificados após sete dias da aplicação do quimioterápico, e em outros oito (40%) sacrificados após 14 dias.

Inflamação

Como era de se esperar os espécimes controle-negativos, ou seja que não receberam tratamento quimioterápico nem aplicações de laser ou LED, não apresentaram inflamação tecidual, nem aos sete dias (n= 4 / 100%) nem aos 14 dias (n=6 / 100%). Já alguns espécimes do grupo de controle-positivos, que receberam o 5-FU, mas não foram submetidos à fotobiomodulação, apresentaram grau discreto de inflamação (n=2 / 40%), aos sete dias. Aos 14 dias, a inflamação não foi mais observada (n=5 / 100%). Esses dados são mostrados na Figura 8.

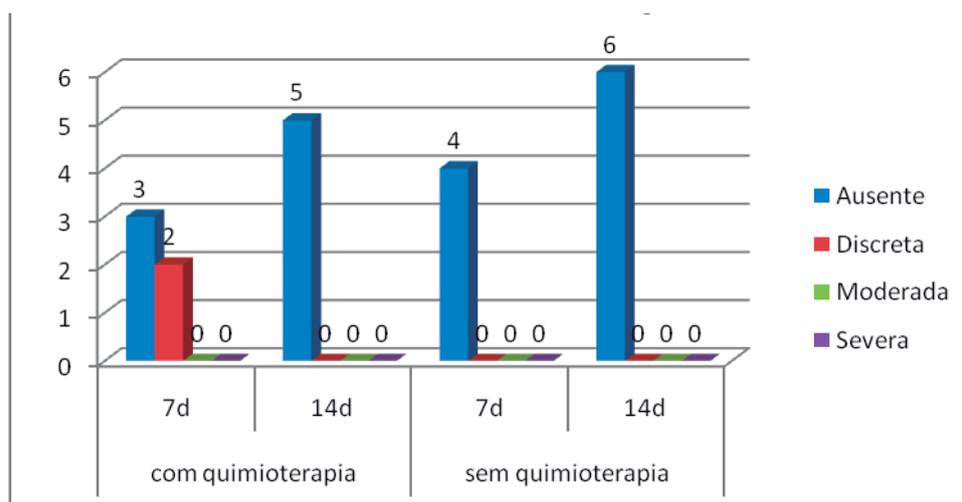


Figura 8: Distribuição dos espécimes controle-positivos e controle-negativos, em relação à presença de inflamação, após sete e 14 dias da aplicação do quimioterápico.

Quando os animais que receberam o tratamento quimioterápico foram submetidos à fotobiomodulação com laser V (660nm), de forma preventiva, ou seja, iniciada no dia anterior à aplicação do 5-FU, observou-se ausência de inflamação nos tecidos avaliados (n=20 / 100%) aos sete dias, 5 irradiações. Porém aos 14 dias, oito irradiações, inflamação discreta foi detectada em 4 espécimes (25%). Quando o mesmo laser foi aplicado de forma terapêutica, ou seja, iniciado no dia três, observou-se inflamação discreta em metade dos espécimes (n= 10 / 50%) aos sete dias, três irradiações e em dois espécimes (10%) aos 14 dias, seis irradiações. Os dados são mostrados na Figura 9.

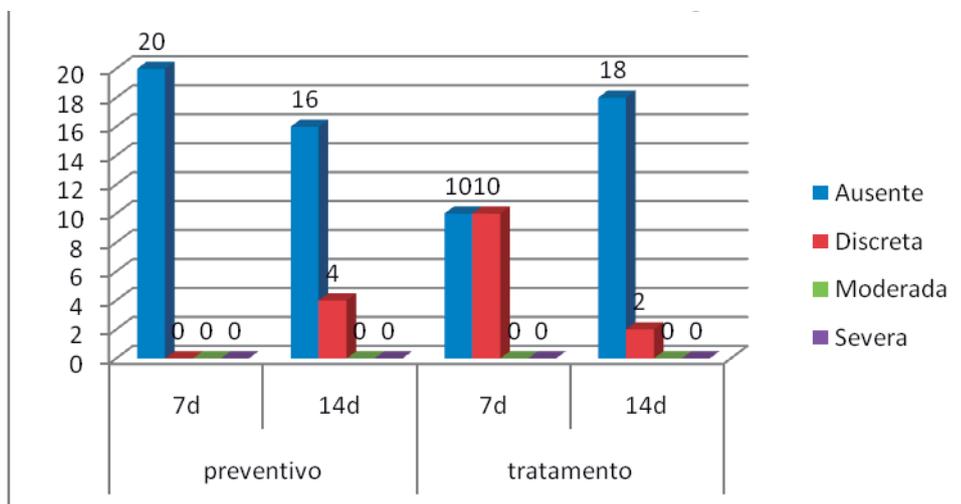


Figura 9: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de inflamação após fotobiomodulação com laser (660nm) de forma preventiva (cinco ou oito irradiações) e terapêutica (três ou seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Com a fotobiomodulação com laser infravermelho (780nm), aplicada de forma preventiva observou-se que sete espécimes (35%) apresentaram grau discreto de inflamação aos sete dias (cinco irradiações), que se elevou para 50% (n=10) aos 14 dias (oito irradiações). No protocolo terapêutico, observou-se que 4 espécimes (20%) apresentaram inflamação discreta aos sete dias (três irradiações), e apenas uma (5%) aos 14 dias, após seis irradiações (n= 20 / 100%). Dados exibidos na Figura 10.

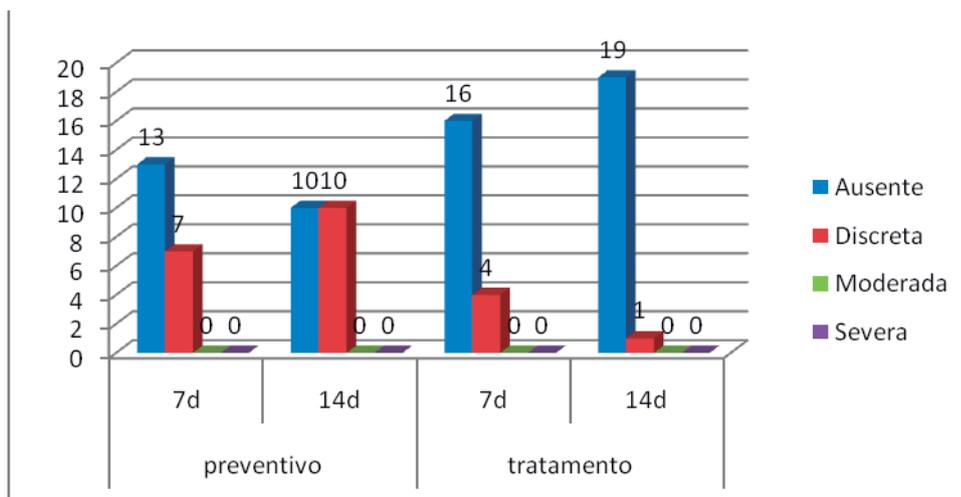


Figura 10: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de inflamação após fotobiomodulação com laser (780nm) de forma preventiva (cinco ou oito irradiações) e terapêutica (três ou seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Quando a fotobiomodulação foi realizada com LED vermelho (670nm) de forma preventiva (cinco irradiações), observou-se que aos sete dias não havia inflamação (n=20 / 100%) e aos 14 dias, após oito irradiações, um espécime (5%) apresentou grau discreto de inflamação. No protocolo terapêutico determinou um grau discreto de inflamação em seis casos (37,5%) e moderado em outros dois (12,5%), aos sete dias. Aos 14 dias, foram encontrados 13 casos (65%) de inflamação discreta e uma (5%) de moderada (Fig.11).

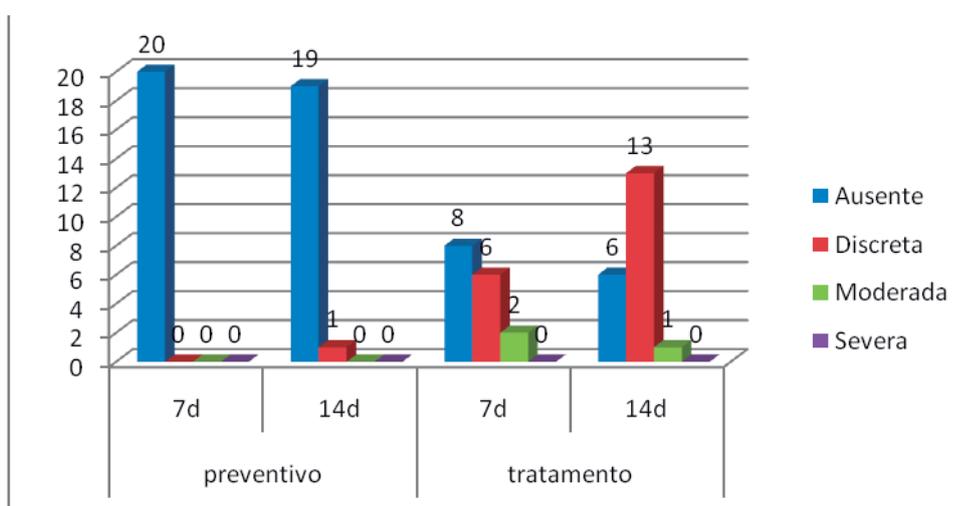


Figura 11: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de inflamação após fotobiomodulação com LED (670nm) de forma preventiva (cinco ou oito irradiações) e terapêutica (três ou seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Ao aplicar-se o LED infravermelho (850nm) de forma preventiva, observou-se casos (15%) de inflamação discreta aos sete dias, após cinco irradiações, e nenhum (n= 20 / 100%) aos 14 dias, após oito irradiações. Com o protocolo terapêutico não identificou-se o aparecimento de inflamação, nem aos sete dias, após três irradiações (n= 20 / 100%), nem aos 14 dias após seis irradiações (n= 20 / 100%). Esses resultados podem ser vistos na Figura 12.

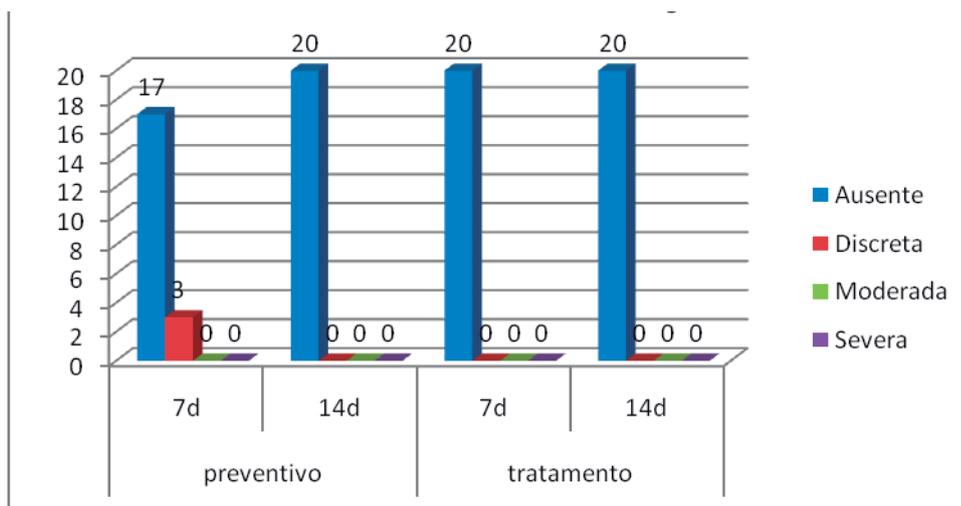


Figura 12: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de inflamação após fotobiomodulação com LED (850nm) de forma preventiva (cinco ou oito irradiações) e terapêutica (três ou seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Quando analisados estatisticamente os dados coletados sobre a presença e grau de inflamação, observou-se uma resposta estatisticamente diferente entre os grupos controle-positivos e os vários protocolos de aplicação da fotobiomodulação, tanto aos sete dias ($X^2_c = 37,65 / p < 0,01$) quanto aos 14 dias ($X^2_c = 65,71 / p < 0,01$).

Congestão vascular

Não foi observada congestão vascular nos grupos controle (Fig.13). No grupo tratado com laser vermelho de forma preventiva e após cinco irradiações, aos sete dias, houve angiogênese discreta em 11 casos (55%), e moderada em um caso (5%). No mesmo grupo após oito irradiações, aos 14 dias, a

congestão vascular foi discreta em sete casos (35%). No mesmo protocolo terapêutico, a congestão vascular foi discreta em 16 casos (84%) e moderada em dois (10,5%), quando os animais foram submetidos a três irradiações, aos sete dias, e discreta em duas lâminas (10%) nos animais submetidos a seis irradiações, aos 14 dias. (Fig.13).

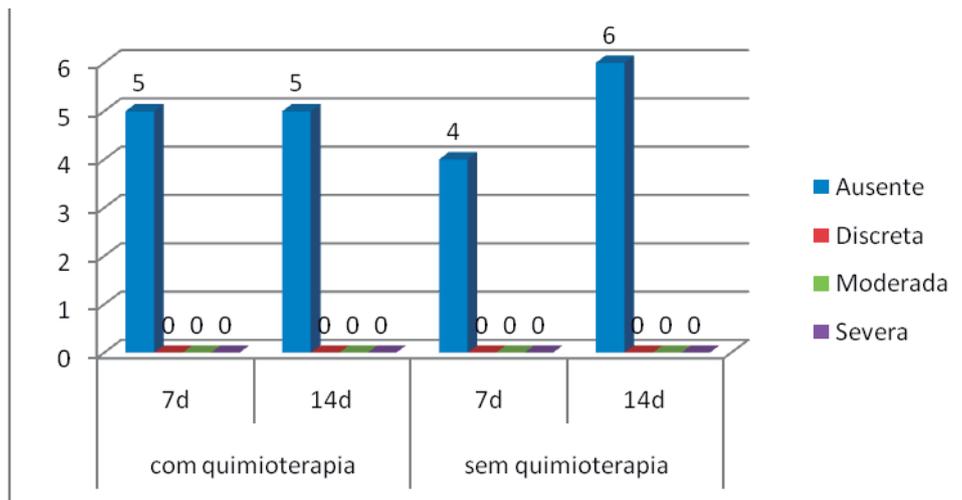


Figura 13: Distribuição dos espécimes controle-positivos e controle-negativos, em relação à congestão vascular, após sete e 14 dias da QT. (FREIRE e SARMENTO, 2011).

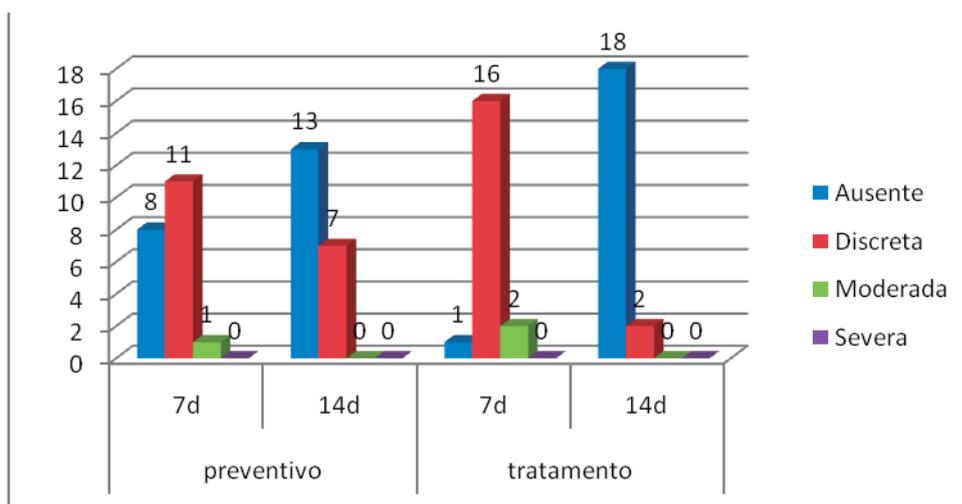


Figura 14: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de congestão vascular após fotobiomodulação com laser (660nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

No grupo onde foi aplicado o laser infravermelho de forma preventiva, observou-se após cinco irradiações, aos sete dias que a congestão vascular foi discreta em sete casos (35%), moderada em cinco casos (25%) e severa em três casos (15%). Nos animais irradiados por oito sessões, após 14 dias, a congestão vascular foi discreta em quatro casos (20%) e moderada em dois (10%). Já no mesmo protocolo terapêutico, houve congestão vascular discreta em dez casos (50%) nos animais irradiados por três sessões aos sete dias, e não houve naqueles submetidos a seis sessões aos 14 dias (Fig.15).

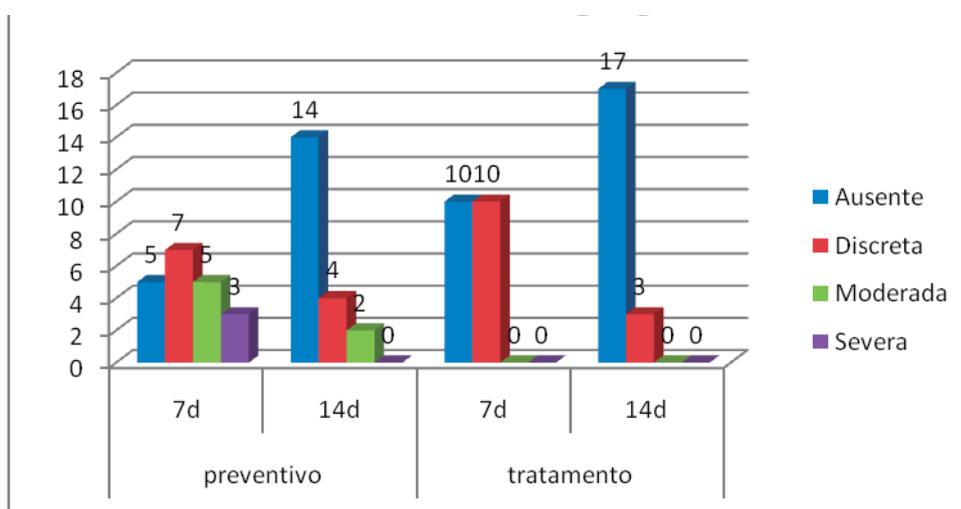


Figura 15: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de congestão vascular após fotobiomodulação com laser infravermelho (780nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Quando da aplicação do LED vermelho de forma preventiva nos animais submetidos a cinco irradiações, aos sete dias, a congestão vascular foi discreta em três casos (15%) e não houve congestão vascular nos animais submetidos a oito irradiações, aos 14 dias. A mesma luz aplicada de forma terapêutica determinou congestão vascular discreta em sete casos (43,8%) de animais após três irradiações, aos sete dias, e em 18 casos (90%), daqueles que passaram por seis irradiações, após 14 dias. Dados exibidos na Figura 16. Já a aplicação do LED infravermelho não determinou congestão vascular em qualquer grupo (Fig.17).

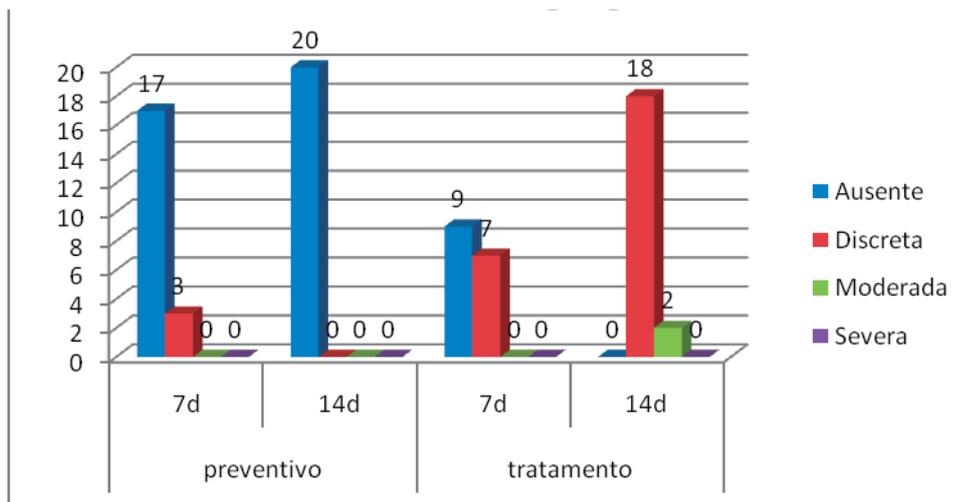


Figura 16: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de congestão vascular após fotobiomodulação com LED (670nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

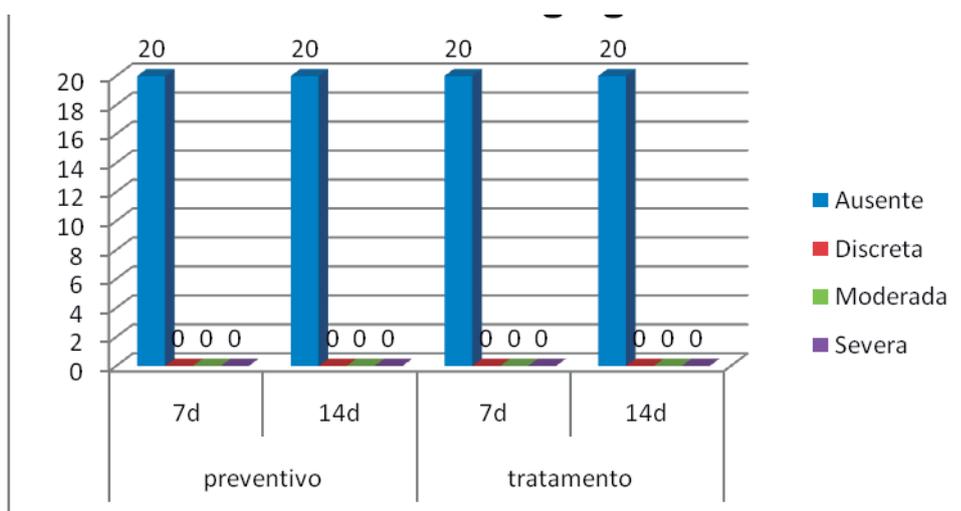


Figura 17: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de congestão vascular após fotobiomodulação com LED (850nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Quando analisado estatisticamente, observou-se uma resposta significativamente diferente entre os grupos controle-positivos e os vários protocolos de aplicação da fotobiomodulação, tanto aos sete dias ($X^2_c = 105,63 / p < 0,01$) quanto aos 14 dias ($X^2_c = 106,45 / p < 0,01$), quanto à presença e grau de congestão vascular.

Necrose

Avaliando-se a presença de necrose nos espécimes do presente estudo, observa-se que ela não foi encontrada nos grupos controles (Fig.18), assim como no grupo que recebeu luz laser vermelha de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e também no grupo de animais tratados com laser V aplicado de forma terapêutica seis irradiações e sacrificados após 14 dias. Apenas no grupo submetido a três irradiações, sacrificado após sete dias, observou-se grau discreto de necrose em um caso (5%), grau moderado em três (15%) e severo em mais um (5%). Os dados são exibidos na Figura 18.

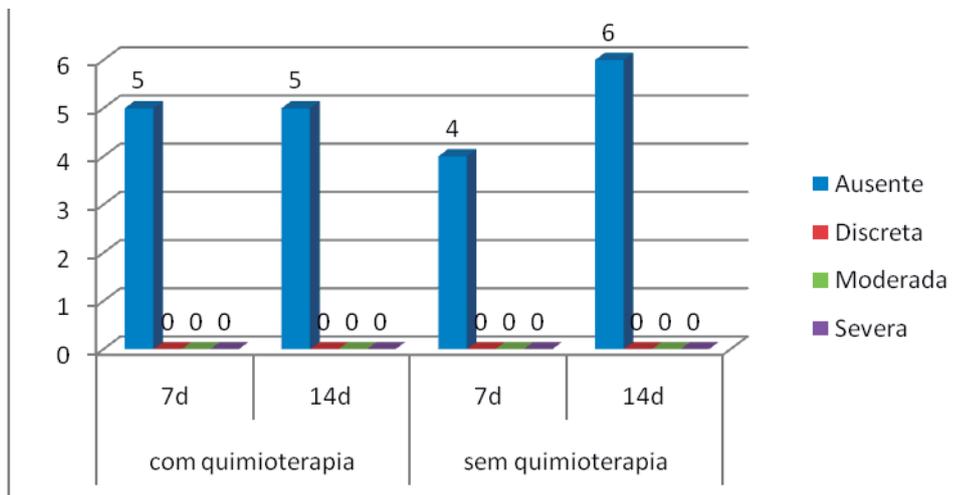


Figura 18: Distribuição dos espécimes controle-positivos e controle-negativos, em relação à presença de necrose, após sete e 14 dias da QT. (FREIRE e SARMENTO, 2011).

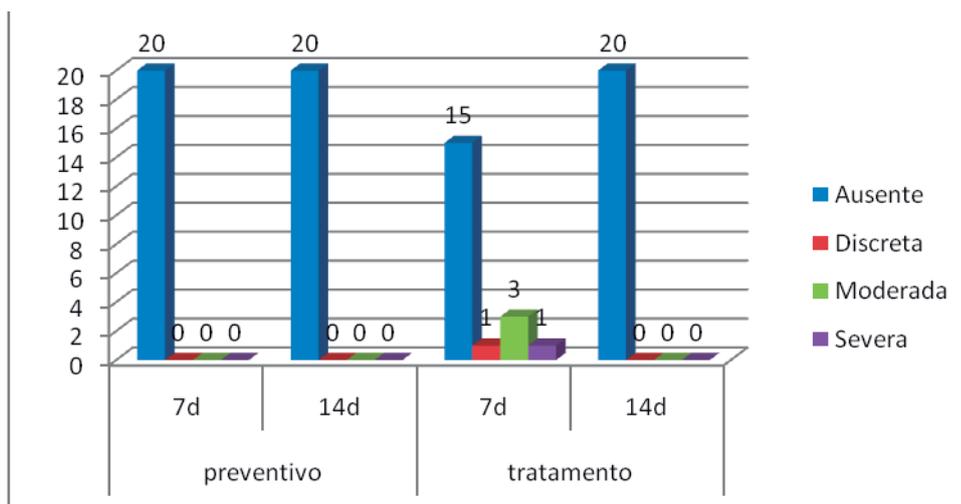


Figura 19: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de necrose após fotobiomodulação com laser (660nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações), aos sete e 14 dias. (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Foi observado um caso (5%) de necrose, discreta ou moderada, nos espécimes que receberam o laser infravermelho de forma preventiva ou terapêutica e foram sacrificados em sete ou 14 dias, conforme exibido na Figura 20.

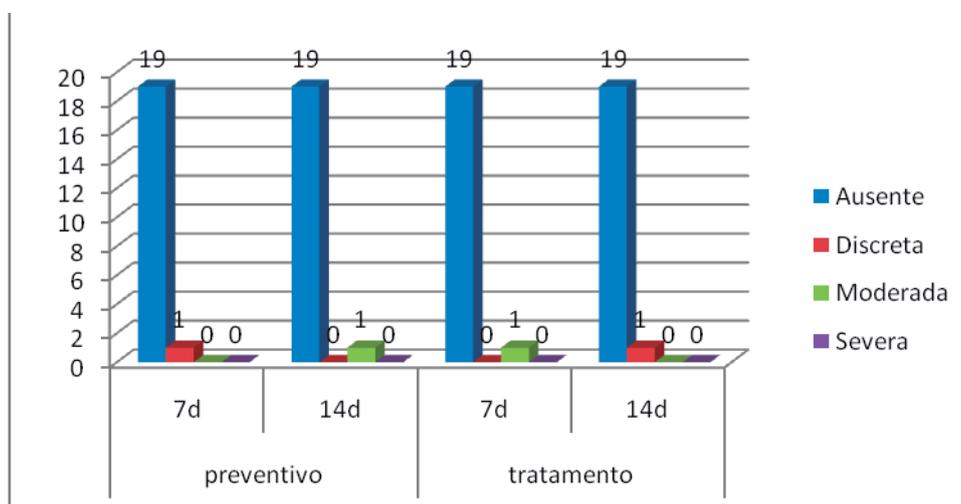


Figura 20: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de necrose após fotobiomodulação com laser (780nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Nos animais tratados com LED vermelho não foi observada necrose quando essa luz foi aplicada de forma terapêutica após três e seis irradiações,

aos sete e 14 dias, nem de forma preventiva, quando os animais passaram por oito irradiações, aos 14 dias. No grupo de animais submetidos a cinco irradiações de forma preventiva, após sete dias observou-se um caso (5%) de necrose moderada (Fig.21).

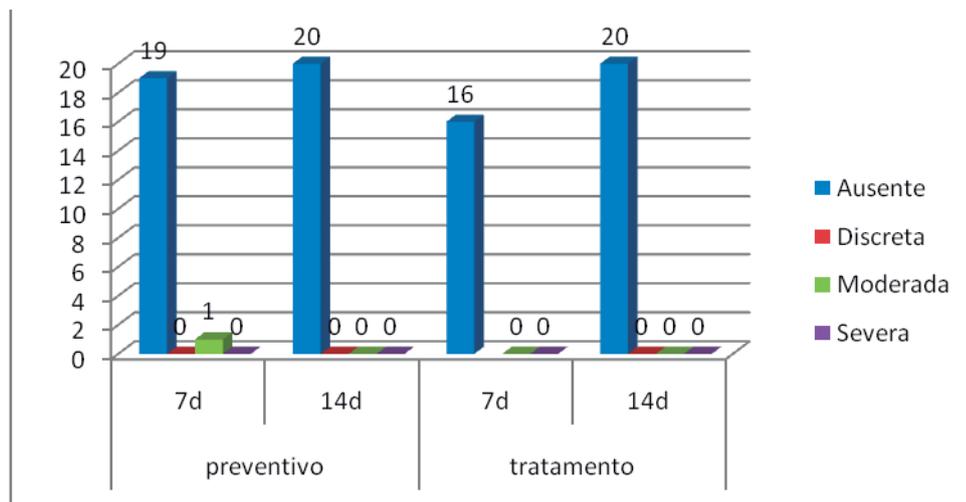


Figura 21: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de necrose após fotobiomodulação com LED (670nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Em relação ao LED infravermelho, não houve verificação de necrose quando essa luz foi aplicada de forma preventiva (cinco e oito irradiações). Quando da aplicação de forma terapêutica, verificou-se após sete dias, com três irradiações houve necrose moderada em cinco casos (25%) e severa em três (15%). Nos animais submetidos a seis irradiações, após 14 dias, a necrose foi discreta em quatro casos (20%) e severa em oito (40%) (Fig.22).

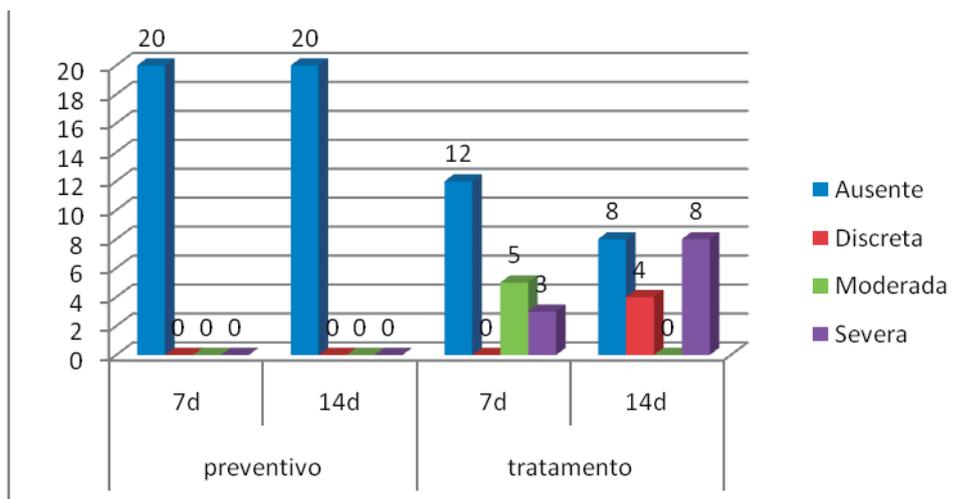


Figura 22: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de necrose após fotobiomodulação com LED (850nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011)

Observou-se uma resposta estatisticamente diferente entre os grupos controle-positivos e os vários protocolos de aplicação da fotobiomodulação, tanto aos sete dias ($X^2_c = 47,72 / p < 0,01$) quanto aos 14 dias ($X^2_c = 100,67 / p < 0,01$), em relação à presença e grau de necrose.

Fibrose

Também foi avaliada a presença e grau de fibrose nos espécimes. Observou-se que no grupo controle-positivo, houve um caso (20%) de fibrose discreta e um caso (20%) de fibrose moderada, tanto nos animais sacrificados após sete dias quanto após 14 dias. No grupo controle-negativo, não foi observada fibrose nos animais sacrificados após sete dias e a fibrose foi discreta em dois casos (33,3%) e moderada em outros dois (33,3%), nos animais sacrificados após 14 dias. Os dados podem ser visualizados na Figura 23.

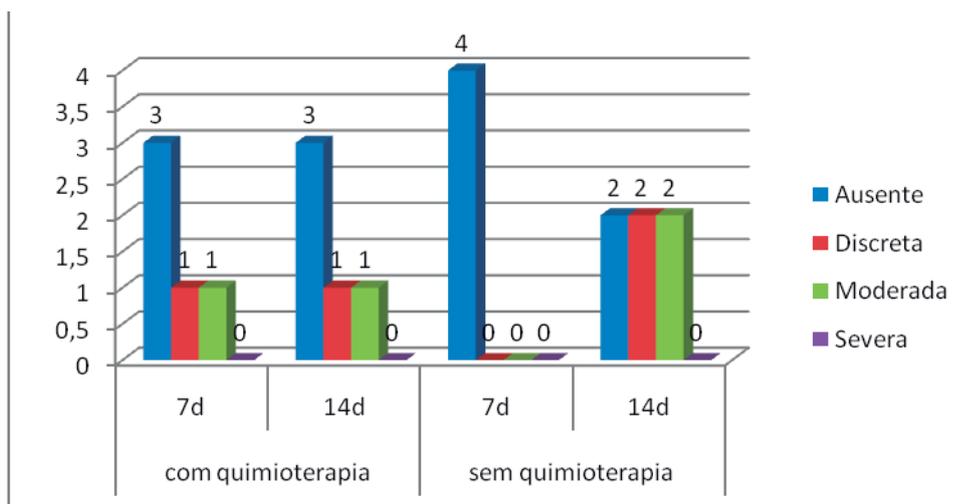


Figura 23: Distribuição dos espécimes controle-positivos e controle-negativos, em relação à presença de fibrose, após sete e 14 dias da QT. (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Quando se tratou com a luz laser vermelha de forma preventiva, cinco irradiações, após sete dias foi observada fibrose discreta em 17 casos (85%). Naqueles que receberam oito irradiações, sacrificados após 14 dias, a fibrose foi discreta em 16 casos (80%) e severa em quatro casos (20%). Na fotobiomodulação terapêutica com esse laser, se observou nove casos (45%) de fibrose discreta e oito (40%) de fibrose moderada, nos animais que receberam três irradiações após sete dias. Nos animais submetidos a seis irradiações após 14 dias, houve sete casos (35%) de fibrose discreta e 12 (60%) de fibrose moderada. Esses resultados podem ser vistos na Figura 24.

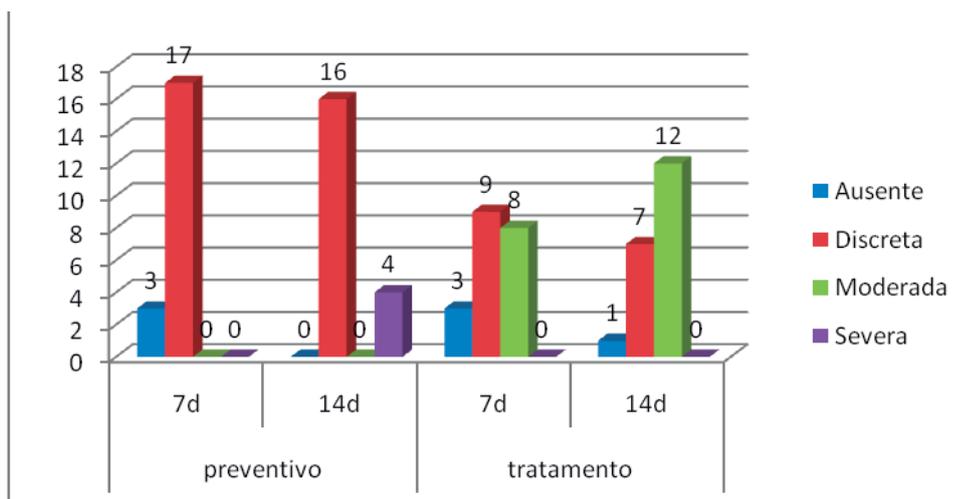


Figura 24: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de fibrose após fotobiomodulação com laser (660nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Quando utilizado o laser infravermelho de forma preventiva com cinco irradiações, houve fibrose discreta em sete casos (35%) nos animais sacrificados após sete dias, e em dez casos (50%) nos animais sacrificados após 14 dias e que passaram por oito irradiações. Aplicado de forma terapêutica, com três irradiações observou-se quatro casos (20%) de fibrose discreta no grupo, após sete dias, e nenhum caso (0%) de fibrose naqueles submetidos a cinco irradiações após 14 dias (Figura 25).

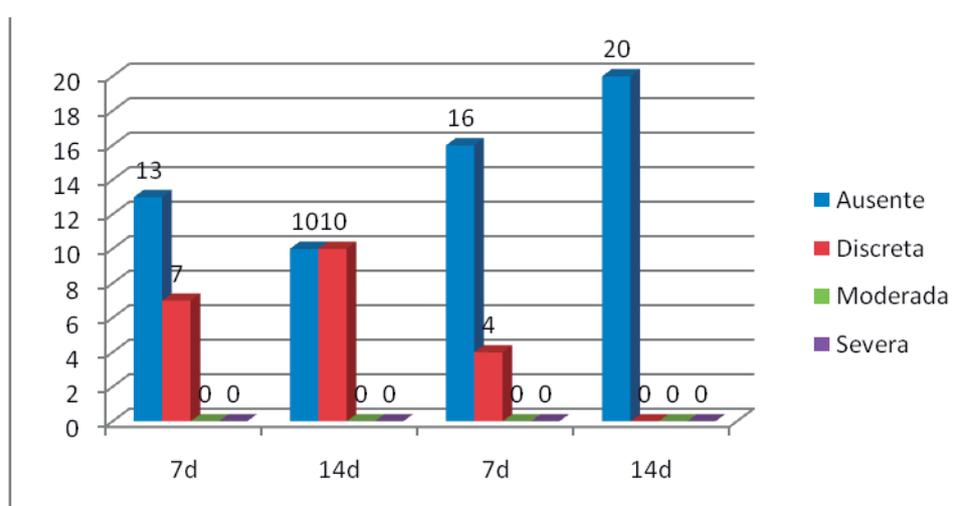


Figura 25: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de fibrose após fotobiomodulação com laser (780nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Ao utilizar a fotobiomodulação LED vermelha de forma preventiva após cinco irradiações, se observou cinco casos (25%) de fibrose discreta e oito (40%) de fibrose moderada, aos sete dias. Nos animais submetidos a oito irradiações, aos 14 dias, encontrou-se um caso (5%) de fibrose discreta e oito (40%) de fibrose moderada. Quando essa luz foi utilizada de forma terapêutica, foram vistos quatro casos (25%) de fibrose discreta e oito (50%) de fibrose moderada, nos animais que receberam três irradiações, após sete dias da QT. Esses valores foram de seis (30%) e 14 casos (70%), respectivamente, nos animais submetidos a seis irradiações após 14 dias. Os resultados são mostrados na Figura 26.

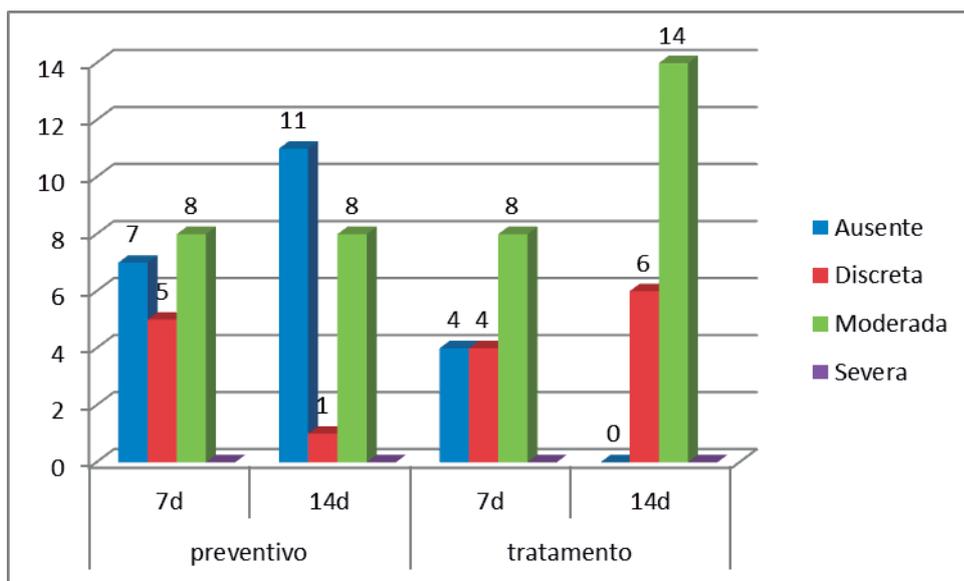


Figura 26: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de fibrose após fotobiomodulação com LED (670nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Em se aplicando o LED infravermelho de forma preventiva com cinco irradiações, se observou nove casos (45%) de fibrose discreta e quatro (20%) de fibrose moderada, aos sete dias. Naqueles submetidos a oito irradiações após 14 dias, esses valores foram dez (50%) e três casos (15%), respectivamente. O LED infravermelho usado de forma terapêutica determinou 16 casos (80%) de fibrose discreta e quatro (20%) de moderada, quando

irradiados por três sessões sete dias da pesquisa, e dez (50%) e quatro casos (20%), respectivamente, nos que receberam seis irradiações após 14 dias. Os dados são vistos na Figura 27.

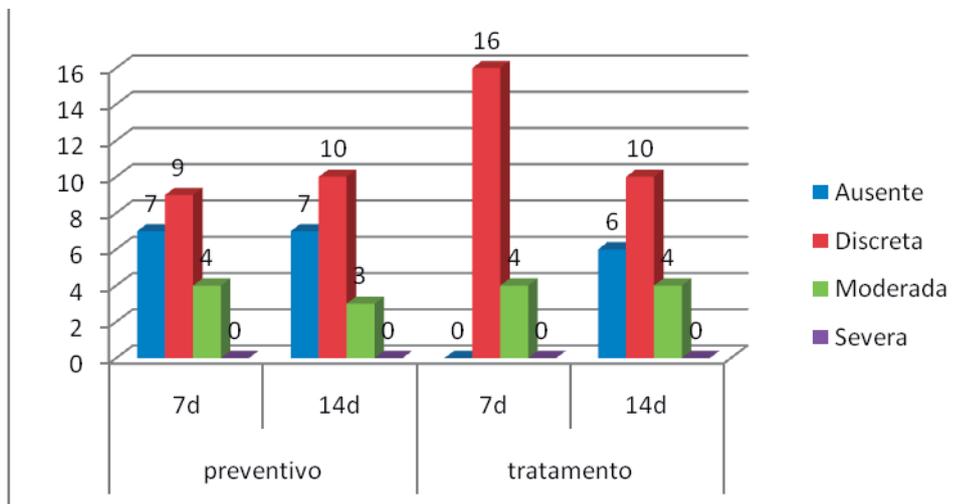


Figura 27: Distribuição dos espécimes quanto ao grau de fibrose após fotobiomodulação com LED (850nm) de forma preventiva (cinco e oito irradiações) e terapêutica (três e seis irradiações). (FREIRE e SARMENTO, 2011).

Quando analisados estatisticamente os dados coletados sobre a presença e grau de fibrose, observou-se uma resposta significativamente diferente entre os grupos controle-positivos e os vários protocolos de aplicação da fotobiomodulação, tanto aos sete dias ($X^2_c = 55,36 / p < 0,01$) quanto aos 14 dias ($X^2_c = 118,94 / p < 0,01$).

6 DISCUSSÃO

Se até 1990 dizia-se não haver tratamento e prevenção para mucosite, exceto alguns agentes que minimizavam a dor e sua severidade; como clorexidina, amifostina, pilocarpina e outros; hoje se pode afirmar que as luzes laser e LED, como agentes fotobiomoduladores celulares, utilizadas adequadamente, promovem grande melhora diminuindo o aparecimento de MB e no tratamento das lesões, sem significar mais riscos à saúde.

As drogas quimioterápicas que não resultam em uma profunda mielossupressão geralmente não podem causar ulcerações mucosas com ruptura do epitélio, pois a ruptura está associada a agentes antimetabólicos como o metotrexato, 5-FU e antagonistas de purinas. Outras drogas como antibióticos antitumorais, hidroxiurea e procarbazine também podem causar ulcerações mucosas não específicas. Mais recentes são as drogas de origem proteica- os inibidores mTOR derivadas da proteína serina/threonina kinase, presentes em todas as células de mamíferos e expressas em muitos cânceres. Tais medicamentos têm determinado EA em 74.4% dos pacientes, sendo o mais frequente a mucosite, ou melhor, mIAS (*mTOR inhibitor-associated stomatitis*), denominação das estomatites associadas aos inibidores mTOR, com incidência de 73,4% estas lesões descritas como dolorosas, duradouras e ulceradas (MARTINS *et al*, 2013). O tratamento ainda se encontra em fase de observações e pesquisas para instituição de terapias adequadas. No presente estudo, a droga quimioterápica utilizada foi o 5-FU, que permite o desenvolvimento de MB, com diferentes graus de severidade, sendo que as aplicações de laser e LED, nos parâmetros utilizados, foram efetivas em preveni-las ou trata-las na grande maioria dos casos.

Dentre os fatores predisponentes ao aparecimento da mucosite, a suscetibilidade individual só é notada frente ao contato com a droga, mas é certo o potencial citotóxico de determinados agentes quimioterápicos. As ulcerações podem ser percebidas já no primeiro ciclo ou nos demais. Estudos

diversos relatam correspondência em relação à idade; ao tipo de neoplasia, tumores sólidos ou líquidos; exposição a agentes químicos e/ou físicos, ou seja, quimioterapia e/ou radioterapia; protocolos de altas doses; estado nutricional vigente, e sem dúvida, ao estado da cavidade bucal e cuidados pertinentes a higiene correta (LEITE *et al.*, 1998; MIGLIORATI e MIGLIORATI, 2000; FREIRE, 2004; RAUBER-DURLACHER *et al.*, 2010). No presente estudo testou-se em modelo animal a efetividade da fotobiomodulação laser e LED, V e IV, com resultados promissores.

Muitos agentes tópicos, enxaguatórios, pastilhas e preparos, usando combinações de ingredientes são testados regularmente para reduzir as lesões de MB, principalmente com o intuito de facilitar a ingestão alimentar e aliviar a dor, de uso local e sistêmico. Os ingredientes incluem: difenidramina hidrocloreto, caulim e pectina, sulfato de magnésio, antiácidos, sucralfato, corticoides, diclofenaco, lidocaína hidrocloreto, entre outros (KEEFE *et al.*, 2007; LALLA, SONIS e PETERSON, 2008; RAUBER-DURLACHER *et al.*, 2010).

A rota da apoptose celular, que explica as etapas do processo de desenvolvimento das lesões de MB, foi acompanhada nos fibroblastos e células endoteliais e explicada por Sonis *et al.*, 2007. O estudo de Liang *et al.*, 2006, com uso do LED vermelho demonstrou significativo decréscimo da cianina indutora de apoptose em diferentes etapas do processo.

Os modelos de pesquisa animal e estudos reprodutíveis incluindo fotobiomoduladores são escassos, em se tratando da MB. França *et al.* (2009) compararam a fotobiomodulação do laser e a crioterapia para prevenção da mucosite. Como resposta a laserterapia apresentou efeito positivo na redução da severidade, sem no entanto prevenir seu aparecimento, apesar de não ter havido protocolo mais específico para tal, como aqui estudado, quando as irradiações ocorreram no d (-1) somente em todos os animais dos grupos preventivos (n=40).

Os sistemas de classificação da MB devem ter validade, confiabilidade e reprodutibilidade intra e interexaminadores. A maioria se baseia na aparência

geral da cavidade bucal, sintomatologia, ingesta alimentar e necessidade de analgésicos ou narcóticos. Devido à diversidade de tratamentos e EA encontrados há ainda muita dificuldade em se estabelecer uma única classificação. A classificação da severidade da MB preconizada pela OMS (1979) é ainda a mais citada nas pesquisas em humanos, com suas distintas fases descritas por Sonis (2004).

Já nos estudos de indução animal e classificação da MB também os modelos de Sonis *et al.* (1990; 2000) são os mais utilizados e adaptados. Para indução da MB foi preconizado uma injeção IP de 5-FU na dose de 60mg/kg, nos dias zero, cinco, e dez do experimento; fazendo-se ranhuras em mucosa do saco jugal nos dias: um, dois e três. As pesquisas atuais em modelo animal, apesar de escassas, geralmente sugerem adaptações na dose, tipo e dias de escarificações, como utilizado por França *et al.*, 2009; quando usou a dose de 100mg/kg e 65mg/kg de QT, respectivamente nos dias um e três; com escarificações mecânicas nos dias quatro e cinco. No estudo de Sacono (2007) e também utilizada no ensaio de Ferrari (2005), foi empregada injeção IP da mesma droga nos dias zero e dois, com 90mg/kg e 60mg/kg respectivamente, ranhuras nos dias três e quatro. Na presente pesquisa, após realização do estudo piloto com 28 animais e variações nas dosagens, para obter-se uma resposta breve e proporcional ao aparecimento das lesões de mucosite menos severas, condizentes com as QTs atuais. Optou-se pela dosagem de 90mg/kg, no dia zero e 60mg/kg, no dia dois do 5-FU IP. Para as ranhuras na mucosa, somente no lado direito, foi utilizada uma escova desenvolvida para este fim, em acrílico e fio ortodôntico inoxidável número 0,8mm, aplicadas por quatro vezes consecutivas, de forma firme e constante pelo mesmo pesquisador nos dias três e quatro, para assim se obter uma ferida mecânica, sem ruptura clínica de epitélio, induzir o aparecimento da MB e mimetizar os traumas oclusais comuns nos humanos, que dão origem às áreas de lesões e nem sempre bilaterais. Quanto aos tempos experimentais para análise histológica, foram escolhidos os tempos de sete e 14 dias, por se considerar que as possíveis alterações causadas na mucosa dos animais pelo 5-FU já estariam presentes e também já poderiam ser checados os efeitos fotobiomoduladores

nestes intervalos de tempo. Como observado e discutido mais a frente, as alterações inflamatórias observadas foram mais evidentes nos animais mortos em sete dias, comparados àqueles de 14 dias.

Os graus das manifestações de mucosite nos intervalos escolhidos foram avaliados forma aleatória por um único examinador calibrado e por meio de imagens digitais, utilizando-se a classificação de Sonis *et al.* (2000) para escores em modelo animal (Figuras 2A -2F). Desta forma pôde-se estabelecer o aparecimento das lesões e nos graus de um a quatro, nos grupos experimentais com poucas diferenciações entre os animais tratados a base de laser ou LED (Tabelas 1 e 2). Observados e comparados o desenvolvimento de MB não foi semelhante nos vários grupos experimentais. Na comparação entre os grupos preventivos laser V (660nm), nos dias sete e 14, os graus variaram entre um e dois, sendo que somente um animal apresentou MB grau três, no grupo de 14 dias; tal qual observado com os hamsters quando irradiados com LED V (670nm) nos mesmos intervalos. Isto indicou que houve uma menor prevalência ao aparecimento da MB nos grupos preventivos. Nos grupos terapêuticos dois animais apresentaram grau três, com o laser V (660nm), em sete dias e dois outros com LED V (670nm), sendo um animal em cada tempo experimental avaliado.

Nos grupos IV os graus se estenderam de um a quatro, representando uma maior severidade no aparecimento da MB. Nos protocolos preventivos com o laser IV (780nm), três animais apresentaram grau três de MB, sendo dois aos sete dias de pesquisa e um aos 14 dias, assim como um hamster apresentou grau quatro aos sete dias. Isto demonstrou uma maior severidade em se comparando com as irradiações no espectro V.

Já nos grupos LED IV (850nm) a variação continuou nos graus de um a três, sendo dois hamsters com mucosite grau três, aos sete dias e um aos 14 dias do experimento. Isto demonstrou uma maior severidade no aparecimento de MB ao compará-los com seus grupos no espectro do vermelho. Nos protocolos terapêuticos com laser IV (780nm) as variações foram do grau um a

quatro, com iguais desenvolvimentos de MB aos sete e 14 dias, quando um animal de cada período apresentou grau quatro. Já para os grupos LED IV (850nm), apenas um hamster desenvolveu mucosite grau quatro. Cabe notar que, em nenhum grupo experimental foi observado grau cinco e os grupos no espectro do V apresentaram um melhor resultado, com diminuição dos quadros de severidade, quando comparados ao espectro do IV. Em relação aos grupos controle: no controle negativo não houve o aparecimento de qualquer alteração e nos controle positivo para a indução de MB, aos sete dias três animais apresentaram o grau dois de MB, um animal grau três e também um grau quatro. Aos 14 dias foram avaliados dois com grau dois, dois com grau três e um com grau cinco, que foi a óbito.

Estes escores são compatíveis com os experimentos já realizados demonstrando que os grupos controles positivos apresentaram graus mais elevados e com maior severidade das lesões de mucosite; especialmente entre os dias cinco e nove, quando a MB alcança os picos máximos como sinalizado por Sacono (2007), quando trabalhou com LED vermelho (630nm). Scully *et al.*, em 2006, sinalizaram os primeiros sinais de aparecimento nos dias quatro a cinco após QT. França *et al.*, 2009, utilizando laser (660nm, 30mW, 1,2J/cm²), determinaram a ação favorável dos tratamentos fotobiomoduladores como aqui demonstrado. Nos estudos em humanos a evidência do efeito biomodulador é de fácil diagnóstico, principalmente por se ter a dor como parâmetro, como já atestado em vários estudos (BARASCH *et al.*, 1995; COWEN *et al.*, 1997; MIGLIORATI *et al.*, 2001; FREIRE, 2004).

Na análise clínica dos grupos, vários sinais se sucederam durante o desenvolvimento do estudo e não houve uma programação prévia para medidas de aferição dos acontecimentos, tais como quando foi notada a alopecia. A pelagem dos animais se tornou quebradiça ao toque e era facilmente notada sua presença na troca de maravalha; a xerostomia medicamentosa, averiguada pela perda do brilho natural da superfície da mucosa, tornando-se friável, ao ponto da pesquisadora gotejar água após o experimento procurando hidratá-las; a inapetência, também constatada, pois

mesmo tomando-se o cuidado de triturar os roletes de ração, os animais passaram a ingerir menor quantidade frente às sobras observadas durante a troca e limpeza das gaiolas, levando inclusive muitos indivíduos a estados de caquexia, com diminuição da mobilidade. Esta foi melhorada com o tempo do experimento, ou seja, nos grupos experimentais de 14 dias e com procedimentos à base de luz, os hamsters apresentaram melhora de seus estados gerais e disposição.

A massa corporal dos animais foi regularmente aferida nos dias de experimento, inclusive para adoção correta das doses de QT e anestesia. Verificou-se significância estatística no grupo controle (+) após 14 dias ($p < 0,05$), para perda de massa corporal. E nos controles negativos aumento das massas corporais, tanto aos sete quanto aos 14 dias do estudo, significando o desenvolvimento natural dos animais (Tabela 4).

Nos grupos lasers, a significância foi observada nos animais aos sete dias ($p < 0,05$), tanto no espectro V (660nm) quanto no IV (780nm), nas irradiações preventivas ou terapêuticas. Comparados os grupos após 14 dias as perdas de massa corporal foram menores, o que expressa a recuperação dos animais ao longo do tempo (Tabela 5). Semelhante ao ocorrido nos tratamentos com LED, os animais após 14 dias apresentaram uma menor perda de massa, comparados aos seus homólogos aos sete dias e significância estatística foi verificada nas irradiações preventivas e terapêuticas no espectro V (670nm), com morte aos sete dias, e também nos grupos LED IV (850nm), nos protocolos preventivos ou terapêuticos, aos sete e 14 dias (Tabela 6). Na pesquisa com LED V (630nm), utilizando $6\text{J}/\text{cm}^2$ em cada mucosa jugal, Sacono (2007), verificou também a tendência da perda de massa corpórea até o dia nove e menores perdas, comparados aos animais controle positivo.

Estudos sobre a fotobiomodulação apontaram que ela pode agir nas três fases do processo de reparo (CORAZZA *et al.*, 2007). Na fase inflamatória foi observado que o laser provoca uma diminuição destas células. Whelan *et al.* (2001) demonstraram que o LED determina o aumento dos fatores do

crescimento, iniciando na sequência a fase de proliferação, assim como os estudos com laser de Ribeiro (2000), Medrado *et al.* (2003), dentre outros. Na segunda fase, o processo de neovascularização é estimulado pela fotobiomodulação das células endoteliais, produzindo a proliferação de fibroblastos (KARU, 1989) e depósito de colágeno, o que por sua vez contribui na formação do tecido de granulação e auxilia o fechamento das margens da ferida. Na última fase do processo de remodelação, a indução por lasers intensifica a neovascularização e o depósito de colágeno, com a melhora na organização e maturação do tecido (YU, NAIM e LANZAFAME, 1994; PINHEIRO *et al.*, 2010).

Em relação aos graus de inflamação neste estudo, nos grupos experimentais com o laser V (660nm), na forma preventiva e após sete dias, houve ausência de inflamação e após 14 dias foi encontrado um percentual de 25% (quatro espécimes) com discreta inflamação. Já nos grupos com protocolo terapêutico, obteve-se 50% (dez espécimes) de discreta inflamação após sete dias e somente 10% de tecido inflamatório, também discreto, após 14 dias. Cabe ressaltar que, mesmo após a indução de MB, as mucosas não apresentaram graus moderados ou severos de inflamação, histologicamente verificável. O mesmo quadro foi observado nos grupos IV. Porém, para esta irradiação (780nm), os grupos terapêuticos mostraram melhor resultado que na forma preventiva; quando aos sete dias, apenas 20% (quatro espécimes) e aos 14 dias, uma amostra (5%) apresentou grau de discreta inflamação. Na forma preventiva, se obteve sete amostras (35%) aos sete dias e dez amostras (50%) aos 14 dias. Os melhores resultados nos grupos lasers foram: ausência de tecido inflamatório, com laser V (660nm) irradiado preventivamente após sete dias; seguido do laser IV (780nm) nas irradiações terapêuticas após 14 dias (95% de ausências) e nas irradiações terapêuticas com laser V (660nm) após 14 dias, 90% de ausência de inflamação (Figuras 9 e 10).

Para as irradiações LED V (670nm), analisado o processo inflamatório, os grupos preventivos foram sensivelmente os melhores resultados, pois em sete dias nenhum espécime apresentou inflamação e

apenas uma amostra (5%), aos 14 dias, apresentou discreto grau inflamatório. Nos grupos terapêuticos com o mesmo comprimento de onda, seis amostras (37,5%) exibiram grau discreto de inflamação e dois espécimes (12,5%), grau moderado aos sete dias. Aos 14 dias, 13 amostras (65%) apresentaram inflamação discreta e uma amostra (5%) moderada (Figura 11). Em concordância com os estudos de Sacono (2007), com LED (630nm) houve ausência de inflamação em 44 espécimes (83%) observados.

Com o LED IV (850nm), nos protocolos preventivos bons resultados foram obtidos, quando três amostras (15%) apresentaram inflamação discreta aos sete dias e nenhuma espécime aos 14 dias do estudo. Nenhuma amostra nos protocolos terapêuticos demonstraram quadros de inflamação aos sete ou aos 14 dias (Figura 12). Os melhores resultados dos grupos LEDs foram: LED IV (850nm) nos protocolos terapêuticos aos sete e 14 dias; LED IV no protocolo preventivo aos 14 dias e com LED V (670nm), em protocolo preventivo aos sete dias, quando não houve quadros de inflamação histologicamente verificáveis.

Nos grupos controle positivo houve significância estatística para presença de tecidos inflamatórios aos sete dias e aos 14 dias, ambos ($p < 0,01$) comparados aos protocolos de fotobiomodulação, o que comprova a diminuição dos processos inflamatórios após os tratamentos a base de luzes lasers e LEDs.

A congestão vascular é outro fator que se processa no decorrer dos quadros de reparação tecidual, quando é procurado o restabelecimento do suprimento de oxigênio e nutrientes, permitindo o aumento do metabolismo celular e das mitoses. Foi tema central da pesquisa de Corazza *et. al.*, em 2007, quando verificaram a angiogênese em cicatrização de feridas cutâneas de ratos com emprego do laser (660nm, 40mW, 1000mW/cm²) e LED (635nm, 90mW, 1058mW/cm²), não encontrando diferenças estatísticas relevantes na comparação destas luzes.

Neste estudo não foi encontrada congestão vascular nos grupos controle positivo, provavelmente em virtude dos efeitos da QT ainda muito presentes nas mucosas. Nos grupos tratados com laser V (660nm), nos protocolos preventivos após sete dias, 55% das amostras (11 espécimes) apresentaram discreta congestão vascular e uma amostra moderada (5%); aos 14 dias sete amostras (35%) apresentaram congestão vascular discreta. Já no protocolo terapêutico, 16 amostras (84%) apresentaram congestão vascular discreta e duas espécimes (10,5%) moderada aos sete dias e duas amostras (10%) com congestão vascular discreta aos 14 dias. Nos protocolos com laser IV (780nm) de forma preventiva obteve-se discreta congestão vascular em sete amostras (35%), moderada em cinco amostras (25%) e severa em três amostras (15%) após sete dias; discreta congestão vascular em quatro amostras (20%), e moderada em dois casos (10%), foram os resultados após 14 dias. Nas irradiações terapêuticas com o mesmo laser, se verificou dez amostras (50%) com discreta congestão vascular, aos sete dias; enquanto só três amostras (15%) apresentaram congestão vascular aos 14 dias (Figuras 14 e 15). Em se analisando que a maior quantidade de congestão de vasos proporciona maior irrigação, o aporte de nutrientes e oxigênio às células, proporcionando melhor e mais rápido processo de reparação, pode-se afirmar que os melhores picos de congestão obtidos após irradiações laser foram: laser V (660nm) no protocolo terapêutico após sete dias (84%), seguido pelo laser IV (780nm) no protocolo preventivo aos sete dias, quando se obteve graus discretos (35%), moderados (25%) e severos (15%) e o mesmo laser no protocolo terapêutico aos sete dias (50%).

No estudo de Corazza *et al.*, (2007), foi verificado que ambas as luzes coerente (660nm) e incoerente (635nm), no espectro V apresentaram resultados similares, variando as respostas da angiogênese apenas na dependência das fluências irradiadas. Nesta pesquisa os protocolos com LED V (670nm) no grupo preventivo e após sete dias, apenas três amostras (15%) apresentaram discreta congestão vascular e nenhuma amostra após 14 dias. No protocolo terapêutico, discreta em sete amostras (43,8%) aos sete dias do experimento e, em 18 amostras (90%) após 14 dias, também em grau discreto.

A congestão vascular não foi verificada em nenhuma amostra do LED IV (Figuras 16 e 17). Esta menor resposta de congestão vascular pode ser devido ao menor aquecimento do LED, que gira em torno de 2^o C, conforme mapeamento térmico realizado com LED vermelho na pesquisa de Sacono, em 2007. Com uma maior área irradiada, em única aplicação também deverá provocar menor congestão vascular, mas poucos estudos são encontrados para explicar sua ação em tecidos biológicos após QT. Resposta estatística significativa foi encontrada nos grupos controle positivo quando comparados aos protocolos de fotobiomodulação, tanto em grau quanto a presença de congestão vascular, aos sete e 14 dias ($p < 0,01$).

A presença de necrose nas amostras foi a menos notada neste estudo, sugerindo que o efeito fotobiomodulador auxiliou tanto na menor severidade clínica dos graus de mucosite, quanto na histológica. Assim, a necrose foi verificada somente no grupo laser V (660nm) no protocolo terapêutico aos sete dias, quando uma amostra (5%) apresentou grau discreto, grau moderado em três (15%) e severo em uma amostra (5%). Com o laser IV (780nm) uma amostra (5%) em cada grupo preventivo, sendo discreta aos sete dias e moderada aos 14 dias. Já no protocolo terapêutico obteve-se também uma amostra (5%) de necrose moderada aos sete dias e discreta aos 14 dias (Figuras 19 e 20). No grupo LED V (850nm) apenas uma amostra (5%) de grau moderado após sete dias de irrigações preventivas. Já para os LEDs IV (780nm) os maiores graus de necrose foram observados, mas somente nos grupos terapêuticos: após sete dias, cinco amostras (25%) moderada e em três (15%) severa, e após 14 dias, quatro amostras (20%) discreta e oito (40%) de necrose severa (Figuras 21 e 22).

A fibrose presente no reparo tecidual foi amplamente verificada, pois se trata de mecanismo envolvido neste processo. Cabe ressaltar que o tecido do saco jugal dos hamsters é uma região de grande impacto no processo digestivo destes animais, é onde armazenam o alimento para ser digerido, assim possui grande elasticidade, motivo pelo qual foi eleita para os estudos sobre mucosite. Para o grupo laser V (660nm), no protocolo preventivo, fibrose discreta

observada em 17 casos (85%), após sete dias; aos 14 dias, discreta em 16 casos (80%) e severa em quatro casos (20%). Já no protocolo terapêutico, nove casos (45%) de fibrose discreta e oito casos (40%) de fibrose moderada, após sete dias; aos 14 dias, sete casos (35%) de fibrose discreta e 12 ou (60%) de fibrose moderada. Com o laser IV (780nm), foram observados resultados mais brandos, pois no protocolo preventivo aos sete dias só sete casos (35%) apresentaram fibrose discreta, e aos 14 dias, dez casos (50%). Na forma terapêutica, quatro casos (20%) com discreta fibrose aos sete dias e nenhum aos 14 dias, caracterizando maior prevalência de fibrose com o emprego do laser no espectro do vermelho (Figuras 24 e 25).

Com o emprego do LED V (670nm), preventivamente obteve-se cinco casos (25%) com fibrose discreta e oito casos (40%) moderada aos sete dias; ao passo que, após 14 dias, um caso (5%) com fibrose discreta e oito (40%) de moderada. Na forma terapêutica, quatro casos (25%) com fibrose discreta e oito (40%) com moderada, após sete dias e com valores de seis (30%) e 14 (70%), respectivamente, aos 14 dias. Com o LED IV (780nm) na forma preventiva nove casos (45%) de fibrose discreta e quatro (20%) moderada; já aos 14 dias os valores foram dez (50%) e três (15%), respectivamente. Nas irradiações terapêuticas 16 amostras (80%) apresentaram fibrose discreta e quatro (20%) com fibrose moderada, após sete dias; enquanto se obteve dez amostras (50%) e quatro (20%) respectivamente, após 14 dias (Figuras 26 e 27). Nos grupos controle (+) houve significância estatística em ambos os intervalos de tempo ($p < 0,01$). Sugere-se que este critério de avaliação tenha menor importância em MB quimioinduzida, pois os tempos de sacrifício foram precoces e a fibrose presente pode estar relacionada aos hábitos alimentares da espécie, sendo encontrada inclusive no grupo controle negativo.

A resposta vascular frente ao emprego de fotobiomoduladores pode ser associada à redução de células inflamatórias (MACHADO *et al.*, 2003), com a estimulação de fatores de crescimento angiogênico, macrófagos, linfócitos T, plaquetas, células endoteliais, fibroblastos e queratinócitos durante a fase inicial do reparo, como reportaram Whelan *et al.* (2001). Segundo Corazza *et al.*

(2007), o estímulo inicial o maior responsável a promover as maiores respostas angiogênicas, tanto para luz coerente quanto para incoerente. É sabido que o aumento da concentração de óxido nítrico acontece em condições celulares patológicas gerando decréscimo na respiração celular e aumento na produção de oxigênio reativo (KARU, 1999). Mas há dose-dependência dos efeitos da luz na prevenção da formação de radicais livres como demonstrado nesse estudo, quando a fluência de $5\text{J}/\text{cm}^2$ estimulou mais intensamente os fenômenos angiogênicos comparada ao tratamento com $20\text{J}/\text{cm}^2$, confirmando os estudos iniciais sobre dosagens com a curva de Arnoldt-Schultz e a fotobiomodulação.

Aqui as fluências de $4,8\text{J}/\text{cm}^2$ e $6\text{J}/\text{cm}^2$ foram as eleitas, com o uso da fórmula $DE (\text{J}/\text{cm}^2) = P(W) \times t(s) / A(\text{cm})$, por já serem confirmados seus efeitos de bioestimulação (WHELAN *et. al.*, 2001; FREIRE, 2004; ENWEMEKA, 2006) e pelo tecido alvo eleito para a pesquisa. Deve-se sempre levar em conta os parâmetros físicos de cromaticidade, coerência e colimação da luz; além da potência do equipamento e spot da caneta e frequência de irradiações para se estabelecer e otimizar a dose utilizada no tecido alvo. Outras dosagens fotônicas devem ser testadas na busca de se estabelecer os parâmetros de fotobiomodulação mais efetivos, frente aos vários tecidos vivos (epitélio, conjuntivo, músculo, osso e nervo) e suas variâncias na absorção e espalhamento da luz.

O efeito do laser como agente biomodulador está relacionado com o aumento no metabolismo, proliferação e maturação celular; aumento da quantidade de tecido de granulação e diminuição dos mediadores inflamatórios, induzindo ao processo de reparação, devido aos estímulos primários desta luz: bioquímicos, bioelétricos e bioenergéticos. Assim como os lasers, os LEDs na faixa do IV próximo estimulam o processo de energia básica das mitocôndrias, quando são ativadas as células sensíveis ao seu comprimento de onda, como cromóforos e sistema citocromo e ambas as luzes podem ser utilizadas para otimização na cicatrização de feridas (LUBART *et al.*, 1992; WHELAN *et al.*, 1999, 2000, 2001, 2003; KARU, 2003).

Nas mucosas aqui avaliadas com lesões de menor severidade provocadas por quimioindução unilateral de MB, mimetizando o controle com drogas atuais de menor potencial citotóxico, nos intervalos deste estudo (sete e 14 dias), as respostas mostraram efetividade tanto nos protocolos preventivos (cinco ou oito irradiações), quanto nos terapêuticos (três ou seis irradiações), apesar das menores repetições de tratamentos nestes últimos. As observações clínicas compatíveis com os estudos histológicos demonstraram menores graus de MB nos grupos experimentais, com respostas positivas nos protocolos preventivos e sinalizando para utilização da luz LED, preferencialmente no espectro do vermelho. Por serem equipamentos mais robustos, mais baratos, compactos, com menor gasto de energia e atingirem maior área de ação por terem spots de saída maiores, representam menor tempo de aplicação e recomendados com este estudo. Assim como os lasers, que já possuem aplicabilidade nos sistemas de saúde pública de alguns estados brasileiros, diminuindo gastos e melhorando a qualidade de vida dos internos, que por sua vez poderão retornar às suas atividades mais rapidamente e com isto representar menor ingesta medicamentosa e gastos hospitalares menores.

Ambas as energias fotobiomoduladoras laser e LED obtiveram resolutividade com a diminuição da severidade das lesões e prevenção ao seu aparecimento; representaram ação importante na prevenção, quando utilizado protocolo de tratamento um dia antes do início da QT, sendo as melhores respostas no espectro do vermelho. As pesquisas na área devem continuar para adequação dos protocolos frente às situações de induções com outros protocolos de QT, em RxT de cabeça e pescoço ou em TMO, principalmente para gerar melhoria na qualidade de vida desta população. Neste estudo obteve-se mais uma confirmação da importância dos cuidados com a cavidade bucal e da tendência irreversível da utilização da luz nos tratamentos antiblásticos.

7 CONCLUSÃO

A metodologia aplicada no presente estudo, com o modelo animal escolhido, permitiu concluir que:

- Clinicamente os graus mais severos de MB foram observados nos espécimes tratados com as luzes no espectro IV, principalmente nos protocolos terapêuticos; e as lesões de MB mais brandas foram encontradas nos grupos do espectro vermelho do protocolo preventivo;
- As maiores perdas ponderais aconteceram nos animais do grupo laser IV; e as menores perdas nos espécimes tratados com laser e LED V nos protocolos preventivos;
- A inflamação foi observada em maior frequência e severidade nos espécimes tratados com LED V no protocolo terapêutico; e as menores severidades histológicas verificadas nos grupos terapêuticos com LED IV.
- A congestão vascular atingiu maior severidade nos grupos laser IV no protocolo preventivo e maior frequência detectada com o uso do LED V no protocolo terapêutico. Já os tratamentos com LED IV não foram observadas amostras com vasos congestos.
- A maior ocorrência de necrose tecidual foi detectada com o uso do LED IV, no protocolo terapêutico; e as menores observadas nos grupos LED V.
- Fibrose tecidual foi encontrada em todos os grupos experimentais e sugere indicar uma resposta normal presente na mucosa deste modelo animal.

REFERÊNCIAS

ABERGEL, R. P.; LAM, T. S.; LASK, G.; DWYER, R. M.; CASTEL, J. C.; UITTO, J. Efectos biológicos del laser. **Invest Clic Laser**, v. 1, p.7-14, 1986.

ABERGEL, R. P.; LYONS, R. F.; CASTEL, J. C.; DWYER, R. M. AND UITTO, J. Biostimulation of wound healing by lasers: experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. **J Dermatol Surg Oncol**, v.13, p.127–133, 1987.

ABERGEL, R. P.; GLASSBERG, E.; UITTO, J. Increased wound-healing rate in pig skin treated by Helium- Neon Laser. Laser interaction with tissue. Michael W. Berns Editor. Session 1. Los Angeles, CA. **Proc SPIE 908**, p. 6-10, 11-13, Jan, 1988.

ADAMIETZ, I. A.; RAHN, R.; BÖTCHER, H. D.; SCHÄFER, V.; REIMER, K.; FLEISCHER, W. Prophylaxis with povidone-iodine against induction of oral mucositis by radiochemotherapy. **Supp C Cancer**, v.6, n.4, p.373-377, July 1998.

ADDY, M.; MORAN, J.M. Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. **Periodont 2000**, v.15, p.52-4, 1997.

AHAMED, T.; ENGELKING, C.; SZALYGA, J.; HELSON, L.; COOMBE, N.; COOK, P.; CORBI, D.; PUCCIO, C.; CHUN, H. AND MITTELMAN, A. Propantheline prevention of mucositis from etiposide. **BMT**, v. 12, p. 131 – 132, 1993.

ALMEIDA, D. **AVALIAÇÃO DO EFEITO DA LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE NA REPARAÇÃO ÓSSEA APÓS RADIOTERAPIA EXTERNA – estudo experimental em ratos**. Tese de Doutorado em Odontologia, Área de Concentração em Laser em Odontologia – Centro de Ciências da Saúde/ Faculdade de Odontologia, Universidade Federal da Paraíba / Universidade Federal da Bahia, 2005.

ANTHONY, L.; BOWEN, J.; GARDEN, A.; HEWSON, I., SONIS, S. New thoughts on the pathobiology of regimenrelated mucosal injury. **Supp C Cancer** v.14, n.6, p.516–518, Jun, 2006.

ANTMAN, K.S.; GRIFFIN, J.D.; ELIAS, A., SOCINSKI, M.A., RYAN, L., CANNISTRA, S.A.; OETTE, D.; WHITLEY, M.; FREI, E. 3RD; SCHNIPPER, L.E. Effect of recombinant human GM-CSF factor on chemotherapy induced myelosuppression. **N Engl J Med**, v.319, p.593 – 598, 1988.

BALDO, P; CECCO, S; GIACOMIN, E; *et al.* MTOR pathway and mTOR inhibitors as agents for cancer therapy. **Curr Cancer Drug Targets**, v.8, p.647–665, 2008.

BAGNATO, V. S. **Novas técnicas ópticas para as áreas da saúde**. São Paulo: Ed. Livraria da Física, 2008. 239 p.

BARACAT, F. F.; FERNANDES JR, H. J.; SILVA, M. J. **Cancerologia Atual: Um Enfoque Multidisciplinar**. São Paulo. Roca, 2000. 548 p.

BARASCH, A. and PETERSON, D.E. Risk factors for ulcerative oral mucositis in cancer patients: unanswered questions. **Oral Oncol** v.39, n.2, p.91–100, 2003.

BASTOS, J. L. N.; LIZARELLI, R. F. Z.; PARIZOTTO, N. A. Comparative study of laser and LED systems of low intensity applied to tendon healing. **Laser Phys**, v. 19, n. 9, p. 1925–1931, 2009.

BENSADOUN, R. J.; FRANQUIN, J. C.; CIAIS, G.; DARCOURT, V.; SCHUBERT, M. M.; VIOT, M.; DEJOU, J.; TARDIEU, C.; BENEZERY, K.; NGUYEN, T. D.; LAUDOYER, Y.; DASSONVILLE, O.; POISSONNET, G.; VALLICIONI, J.; THYS, A.; HAMDI, M.; CHAUVEL, P.; DEMARD, F. Low energy He-Ne laser in the prevention of radiation- induced mucositis. A multi-center phase III randomized study in patients with head and neck cancer. **Supp C Cancer**, v.7, n.4, p.244-252, 1999.

BENEDICENTI, A. **Manuale di laser terapia del cavo orale**. Castello: Maggioli, 1982. 157p.

BERGER, A.; HENDERSON, M.; NADOOLMAN, W.; DUFFY, V.; COOPER, D.; SABERSKI, L.; BARTOSHUK, L. Oral capsaicin provides temporary relief for oral mucositis pain secondary to chemotherapy/radiationtherapy. **J Pain Sympt Manag**, v.10, n.3, p. 243-248, April 1995.

BERGER, A. M. and KILROY, T. J. **Oral complications: Principles and Practice of Oncology**. DeVita VJ Jr, Hellmen S, Rosenberg SA (Eds.), 5th ed. Lippincott Raven, Philadelphia, PA. 1997, 2714p.

BEUVOIT, B.; KITAI, T.; CHANCE, B. Correlation between the light scattering and the mitochondrial content of normal tissues and transplantable rodent tumors. **Anal Biochem**, v.226, p.167–174,1994.

BEUVOIT, B.; EVANS, S.M.; JENKINS, T.M.; MILLER, E. E. AND CHANCE, B. Contribution of the mitochondrial compartment to the optical properties of the rat liver: a theoretical and practical approach. **Anal Biochem**, v.226, p.167–174, 1995.

BEZ, C.; DEMORASI, F.; SARDELLA, A.; LODI, G.; BERTOLLI, V.G.; ANNALORO, C.; RIMONDINI, L.; PORTER, S.R.; CARRASSI, A. GM-CSF mouthrinses in the treatment of severe oral mucositis—a pilot study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.88, p.311–315,1999.

BICUDO, L.L. **Utilização de LEDs na prevenção de mucosite oral em pacientes com linfoma de Hodgkin clássico- estudo de caso**. Dissertação de mestrado. IPEN, São Paulo, 2004

BISWAL, B. M.; ZAKARIA, A.; AHMAD, N.M. Topical application of honey in the management of radiation mucositis. A preliminary study. **Supp C Cancer**, v.11, n.4, p.242–8, 2003.

BLEYER, J.P. A controlled evaluation of an allopurinol mouthwashesas prophylaxis against 5-FU induced stomatitis. **Cancer**, 1879,1990.

BORAKS, S. **Diagnóstico Bucal**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1999. 417 p.

BOROWSKI, B.; BENHAMOU, E.; PICO, J. L.; LAPJANCHE, A.; MARGAINAUD, J. P.; HAYAT, M. Prevention of oral mucositis in patients treated with high-dose chemotherapy and bone marrow transplantation: a randomized controlled trial comparing two protocols of dental care. **Eur J Cancer B Oral Oncol** , v.30B, p.93-97, 1994.

BRADLEY, F. P. Pain relief in laser therapy. **5th Cong Inter Soc Laser Dent**, 5-9 maio, Jerusalém, Israel, 1996.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Programas de Controle de Câncer. **Quimioterapia**. Rio de Janeiro, IPCA, p.45-63, 1999.

BRENTANI, M. M. *et al.* **Bases da Oncologia**. São Paulo, Lemar e Ed . Marina, 1998.

BUENTZEL, J.; MICKE, O.; ADAMIETZ, I.A., MONNIER, A.; GLATZEL, M.; DE VRIES, A. Intravenous amifostine during chemoradiotherapy for head-and-neck cancer: a randomized placebo-controlled phase III study. **Inter J Rad Onco, Biol, Phys**, v.64, n.3, p.684–91, 2006.

CARL, W. Radiação local e quimioterapia sistêmica: Prevenindo e Administrando as complicações orais. **JADA**, p.119-123, 1993.

CARL, W. Oral complications in cancer patients. **A F P**, v.27, n.2, p.161-170, Feb. 1993.

CASTRONUOVO, G. F.; GIAVELLI, S. The skin role during a low level laser therapy. In: Laser Bologna.3rd. World Congress Internation Society for Low Power Laser Applications in Medicine. **Proc.** Bologna, Italy,1992.

CENGIZ, M.; OZYAR, E.; OZTURK, D.; AKYOL, F. ATAHAN, I. L.; HAYRAN, M. Sucralfate in the prevention of radiation-induced oral mucositis. **J Clinic Gastroenterol**, v.28, n.1, p.40-43, January. 1999.

CHANCE, B.; NIOKA, S.; KENT, J., *et al.* Time resolved spectroscopy of hemoglobin and myoglobin in resting and ischemic muscle. **Anal Biochem**, v.174, p.698–707,1988.

CHENG, K. K.; MOLASSIOTIS, A.; CHANG, A. M.; WAI, W.C.; CHEUNG, S. S. Evaluation of an oral care protocol intervention in the prevention of chemotherapy-induced oral mucositis in paediatric cancer patients. **Eur J Cancer**, v.37, n.16, p.2056–2063, Nov,2001.

CHI, K. H.; CHEN, C. H.; CHAN, W. K.; CHOW, K. C.; CHEN, S. Y.; YEN, S. H.; CHAO, J. Y.; CHANG, C. Y.; CHEN, K.Y. Effect of granulocyte –macrophage colony-stimulating factor on oral mucositis in head and neck cancer patients after cisplatin, fluorouracil and leucovorin chemotherapy. **J Clin Oncol**, v.13, p. 2620 – 2628,1995.

CLARK, J. C.; MCGREE, R.F. **Enfermagem Oncológica, um Currículo Básico**. Porto Alegre, Artes Médicas, 1997.

COMMON TERMINOLOGY CRITERIA FOR ADVERSE EVENTS v30 (CTCAE). Documento da Internet [Acesso em 18 Outubro, 2010]. http://ctep.info.nih.gov/reporting/ctc_v30.html

CONLAN, M. J.; RAPLEY, J. W. AND COBB, C. M. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. **J Clin Periodont**, v.23, p.492–496, 1996.

CONSENSUS STATEMENT: Oral complications of cancer therapies. **NCI Monog**, v.9, p.3-8, 1990.

CORAZZA, A. V.; JORGE, J.; KURACHI, C.; BAGNATO, V. S. Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources. **Photomed Laser Surgery**, v.25, n.2, p. 102-106, 2007.

CORTI, L.; CHIARION-SILENI, V.; AVERSA, S.; PONZONI, A.; D'ARCAIS, R.; PAGNUTTI, S. *et al.* Treatment of chemotherapy-induced oral mucositis with light emitting diode. **Photomed Laser Surg**, v.24, p.207-13, 2006.

COWEN, D.; TARDIEU, C.; SCHUBER, M.; PETERSON, D.; ERSBEUT, M.; FAUCHER, C.; FRANQUIN, J. C. Low energy helium-neon laser in prevention of oral mucositis in patients undergoing bone marrow-transplant: results of a double blind randomized trial. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v.38, n.4, p.697-703, July, 1997.

CRUANES, J. C. **La terapia laser, hoy**. Barcelona: Centro de Documentacion Laser de Meditec, 1984. 164p.

CUNHA, S.S. **Avaliação do efeito do laser infravermelho de 780nm no tecido ósseo submetido à radioterapia - estudo experimental em ratos**. Tese de doutorado- UFPB/ UFBA, 2006.

DAVIES, A. N.; SINGER, J. A comparison of artificial saliva and pilocarpine in radiation- induced xerostomia. **J Laryngol Otol**, v.108, n.8, p.663-665, Aug, 1994.

DESMET, K.D.; DAVID, A. P.; JESSE, J. C.; *et al.* Clinical and Experimental Applications of NIR-LED Photobiomodulation. **Photomed Laser Surg**, v. 24, n. 2, p. 121–128, 2006.

DE OLIVEIRA, M. A.; MARTINS, E.; MARTINS, F.; WANG, Q. *et al.* Clinical presentation and management of mTOR inhibitor-associated stomatitis. **Oral Oncol**, v. 47, p. 998–1003, 2011.

DONNELLY, J. P.; BELLM, L. A.; EPSTEIN, J.B.; SONIS, S. T; SYMONDS, R. P. Antimicrobial therapy to prevent or treat oral mucositis. **Lancet Infect Dis**, v. 3, p.405–412, 2003.

DÖRR, W.; JACUBEK, A.; KUMMERMEHR, J.; HERRMANN, T.; DÖLLING-JOCHEN, I.; ECKELT, U. Effects of stimulated repopulation on oral mucositis during conventional radiotherapy. **Radiat Oncol**, v.37, n.2, p.100-107, 1995.

DREIZEN, S. Description and Incidence of Oral Complications. **NCI Monographs**, v..9, p.11-15, 1990.

DUNCAN, M.; GRANT, G. Oral and intestinal mucositis: causes and possible treatments. **Aliment Pharmacol Ther**, v.18; p. 853–874, 2003.

EDUARDO, F. P. **Efeitos da radiação laser em baixa intensidade de 650nm e 780nm na prevenção de mucosite oral em pacientes submetidos a transplante de medula óssea**. Dissertação de Mestrado- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo, 2003.

ENWEMEKA, C. S. The Place of Coherence in Light Induced Tissue Repair and Pain Modulation. **Photom Laser Surg**, v.24, n.4, p. 457-457, 2006.

EPSTEIN, J.B.; MC BRIDE, B. C.; STEVENSON-MOORE, P.; MERILEES, H.; SPINELLI, J. The efficacy of chlorhexidine gel in reduction of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* species in patients treated with radiation therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.71, n.2, p.172-178, Feb. 1991.

EPSTEIN, J.B.; FREILICH, M. M.; LE, N. D. Risk factors for oropharyngeal candidiasis in patients who receive radiation therapy for malignant conditions of the head and neck. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.76, n.2, p. 169-174, August. 1993.

EPSTEIN, J.B.; SCHUBERT, M.M. Oral mucositis in myelosuppressive cancer therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.88, n.3, p.273-276, 1999.

European Society for Medical Oncology: Reference Guidelines (ESMO), 2005. [http://www.esmo.org/reference/reference_guidelines.htm].

FADDA, G.; CAMPUS, G.; PIERFRANCA, L. Risk factors for oral mucositis in paediatric oncology patients receiving alkylant chemotherapy. **BMC Oral Health**, v.6, p.13, 2006.

FAIVRE, S; KROEMER, G; RAYMOND, E. Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. **Nat Rev Drug Discov**, v.5, p.671–688, 2006.

FERRARI, J.C.L. **Efeito do laser terapêutico na mucosite induzida por 5-fluoruracila (5-FU) em hamsters**. Dissertação de Mestrado. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2005.

FERTÉ, C.; PACI, A.; ZIZI, M. *et al* Ferté C, Paci A, Zizi M, et al. Natural history, management and pharmacokinetics of everolimus-induced-oral ulcers: insights into compliance issues. **Eur J Cancer**, v. 47, p. 2249 –2255, 2011.

FIDLER, P.; LOPRINZI, C. L.; O'FALLON, J. R.; LEITCH, J. M.; LEE, J. K.; HAYES, D. L.; NOVOTNY, P.; CLEMENS-SCHUTJER, D.; BARTEL, J.; MICHALAK, J.C. Prospective evaluation of chamomile mouthwash for prevention of 5-FU-induced oral mucositis. **Cancer**, v. 77, p.522 – 525, 1996.

FRANÇA, C. M.; FRANÇA, C. M.; NÚÑEZ, S. C.; PRATES, R. A.; NOBORIKAWA, E.; FARIA, M. R.; RIBEIRO, M. S. Low-intensity red laser on the prevention and treatment of induced-oral mucositis in hamsters. **J Photoch Photobiol B: Biol**, v.94, p. 25-31, 2009.

FRANZEN, L.; HENRIKSSON, R.; LITTBAND, B.; ZACKRISSON, B. Effects of sucralfate on mucositis during and following radiotherapy of malignancies in the head and neck region. A double-blind placebo-controlled study. **Acta Oncol**, v.34, n.2, p. 219-223, March 1995.

FREITAS, A.; ROSA, J. E.; SOUZA, I. F. **Radiologia Odontológica**. 4 ed. São Paulo: Artes Médicas. 1998.704p.

FREIRE, M. R. S. **Estudo clínico dos efeitos do laser diodo em baixa intensidade de emissão infravermelha para casos de mucosite bucal**. Dissertação de Mestrado. São Paulo: IPEN/ FOU SP, 2004.

GALLAGER, J. G. Mucositis. **Handbook Of Supportive Care in Cancer**. New York, p.147-56. 1995.

GARG, A. K.; MALO, M. Manifestations and treatment of xerostomia and associated oral effects secondary to head and neck radiation therapy. **J Am Dent Assoc**, v.128, n.8, p.1128-1133, Aug.1997.

GRIDELLI, C; MAIONE, P; ROSSI, A. The potential role of mTOR inhibitors in non-small cell lung cancer. **Oncologist**, v.13, p.139–147, 2008.

GRINSPAN, D. Enfermedades de la boca. Buenos Aires: Mundi, **Actual Med**, Tomo II, p.773-1575, 1982.

GRINSPAN, D. Enfermedades de la boca. Buenos Aires: Mundi, **Actual Med**, Tomo VI, p.4153-5001, 1991.

GROTH, E. B. **Contribuição para o estudo da aplicação do laser de baixa potência de Ga-Al-As no tratamento de hipersensibilidade dentinária**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. 1993.

HERRERA, D.; ROLDAN, S.; SANTACRUZ, I.; SANTOS, S.; MASDEVALL, M.; SANZ, M. Differences in antimicrobial activity of four commercial 0.12% chlorhexidine mouthrinse formulations: an in vitro contact test and salivary bacterial counts study. **J Clin Periodontol**, v.30, p. 307-14, 2003.

HOSPERS, G. A.; EISENHAUER, E. A.; DE VRIES, E.G. The containing compounds WR-2721 and glutathione as radio and sulphhydryl chemoprotective agents. A review, indications for use and prospects. **Br J Cancer**, v.80, n.5, p. 629-638, May, 1999.

IJIRI, K. and POTTEN, C.S. Response of intestinal cells of differing topographical and hierarchical status to ten cytotoxic drugs and five sources of radiation. **Br J Cancer**, v.47, p.175–185, 1983.

IJIRI, K. and POTTEN, C. S. Further studies on the response of intestinal crypt cells of different hierarchical status to eighteen different cytotoxic agents. **Br J Cancer**, v.55, p.113–123, 1987.

JOHNSON, J. T.; FERRETTI, G. A.; NETHERY, W. J.; VALDEZ, I. H.; FOX, P. C.; NG, D.; MUSCOPLAT, C. C.; GALLAGHER, S. C. Oral pilocarpine for post-irradiation

xerostomia in patients with head and neck cancer. **N Engl J Med**, v.329, n.6, p.390-395, August, 1993.

KARU, T. Photobiology of low laser effects. **Heal Phys**, v.56, n.5, p.691-704, maio, 1989.

KARU, T. Interactions of monochromatic visible light and near infrared radiation with cells: currently discussed mechanisms. In: Laser- Tissue Interaction. JACQUES, S. L. and KATZIR, A.. **Proc. SPIE**, v.2391, p.576-586, 1995.

KARU, T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near -IR radiation on cells. **J Photochem. Photobiol. B: Biol.**, v. 49, p.1-17, 1999.

KARU, T. Low-Power Laser Therapy. **Biomedical Photonics Handbook**. Boca Raton, FL: CRC Press. 2003.

KEEFE, D. M.; SCHUBERT, M. M.; ELTING, L. S.; SONIS, S. T.; EPSTEIN, J. B., RABER-DURLACHER, J. E. *et al.* Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. **Cancer**, v.109, n.5, p.820–31, 2007.

KELNER, N. e CASTRO, J. F. L. Laser de baixa intensidade no tratamento da mucosite oral induzida pela radioterapia: relato de casos clínicos. **R Br Cancerol**, v.53, n.1, p.29-33, 2007.

KLASCHKA, F. AND MODIANO, M. R. Chamomile: mode of action and formulation. **Interd Chamom Symp**, Frankfurt/Main, West Germany, 1987.

KONING, B. A. E.; LINDENBERGH-KORTLEVE, D. J.; PIETERS, R.; BÜLLER, H. A.; RENES, I. B.; EINERHAND, A. W. C. Alterations in epithelial and mesenchymal intestinal gene expression during doxorubicin-induced mucositis in mice. **Dig Dis Sci**, v. 52; p.1814–1825, 2007.

LALLA, R. V.; SONIS, S. T.; PETERSON, D. E. Management of Oral Mucositis in Patients with Cancer. **Dent Clin North Am**, v.52, n.1, p. 61–viii, Jan, 2008.

LANZÓS, I.; HERRERA, D.; SANTOS, S.; O'CONNOR, A.; PEÑA, C.; LANZÓS, E.; SANZ, M. Mucositis in irradiated cancer patients: Effects of an antiseptic mouthrinse. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.15, n.5, p.732-738, 2010.

LEITE, M. P. C. **Câncer: Diagnóstico e Tratamento**. São Paulo, 1996.

LIANG, H. L.; WHELAN, H.T.; ELLS, J. T. *et. al.* Photobiomodulation partially rescues visual cortical neurons from cyanide-induced apoptosis. **Neuroscience**, v. 139, p. 639-649, 2006.

LIZARELLI, R.F.Z. and MACIEL, V. Fototerapia de baixa intensidade em odontologia e fisioterapia. In: BAGNATO, V.S., **Novas Técnicas Ópticas para as Áreas da Saúde**. São Paulo: Ed. Livraria de Física; 2008, cap 9, p.187-209.

LOGAN, R.M.; GIBSON, R.J.; SONIS, S.T., KEEFE, D.M. Nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in the oral mucosa following cancer chemotherapy. **Oral Oncol**, v.43,n.4, p.395–401, Apr, 2007.

LOPES, M. A.; COLETTA, R. D.; ALVES, F. A.; ABBADE, N. Reconhecendo e controlando os efeitos colaterais da radioterapia. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v.52, n.3, p.241-244, Mai/Jun, 1998.

LOPRINZI, C.L.; CAINFLONE, S.G.; DOSE, A.M.; ETZELL, P.S., BURNHAM, N.L.; THERNEAU, T.M. *et al.* A controlled evaluation of an allopurinol mouthwash as prophylaxis against 5-fluorouracil-induced stomatitis. **Cancer**, v. 65, n.8, p.1879–82. 1990.

LOUPAKIS, F.; MAIS, G.; FORNARO, L.; VASILE, E.; ALLEGRINI, G.; FONTANA, E.; GRANETTO, C.; SALVATORE, L.; MENTUCCIA, L.; ANDREUCETTI, M.; CORTESI, E.; MERLANO, M.; CASCINU, S.; FALCONE, A. Phase II study of sequential cisplatin plus 5-fluorouracil/leucovorin (5-FU/LV) followed by irinotecan plus 5-FU/LV followed by docetaxel plus 5-FU/LV in patients with metastatic gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma. **Cancer Chemother Pharmacol**, v.66, n.3, p.559-66, 2010.

LUBART, R.; WOLLMAN, Y.; FRIEDMAN, H.; *et al.* Effects of visible and near-infrared lasers on cell culture. **J Photochem Photobiol**, v.12, p.305–310, 1992.

MAHOOD, D. J.; DOSE, A. M. AND LOPRINZI, C. L. Inhibition of 5FU induced mucositis by oral cryotherapy. **J Clin Oncol**, v. 9, p.449 – 452, 1991.

MAIMAN, T. H. Stimulated optical radiation in rubi. **Nature**, v.107, p.493- 494, 1960.

MARTINS, F.; OLIVEIRA, M. A.; WANG, Q.; *et al.* A review of oral toxicity associated with mTOR inhibitor therapy in cancer patients. **Oral Oncology**, v. 49, p. 293–298, 2013.

MARX, R. E.; JOHNSON, R. P. Studies in the radiobiology of osteoradionecrosis and their clinical significance. **Oral Surg**, v.64, n.4, p.379-390, Oct. 1987.

MAS, J. R. Bioenergia e propriedades ópticas dos tecidos. In: PINHEIRO, A.L.B., BRUGNERA JÚNIOR, A.; ZANIN, F.A.A. **Aplicação do Laser na Odontologia**, São Paulo: Ed Santos, 2010. Cap 4, p. 65-76.

MASCARIN, M.; FRANCHIN, G.; MINATEL, E.; GOBITTI, C.; TALAMINI, R.; DE MARIA, D.; TROVO, M. G. The effect of granulocyte colony-stimulating factor on oral mucositis in head and neck cancer patients treated with hyperfractionated radiotherapy. **Oral Oncol**, v.35, n.2, p.203-208, March 1999.

MAYAYO, E. Mastócitos y radiaciones láser. **Inv y Clínica Laser**, v.1, p.24-25, 1984.

MCCARTHY, G.M.; AWDE, J.D.; GHANDI, H.; VINCENT, M.; KOCHA, W.I. Risk factors associated with mucositis in cancer patients receiving 5-fluorouracil. **Oral Oncol** v.34, n.6, p.484–490, Nov, 1998.

MEREDITH, R.; SALTER, M.; KIM, R. SPENCER, S.; WEPPELMANN, B.; RODU, B.; SMITH, J.; LEE, J. Sucralfate for radiation mucositis: results of a double-blind randomized trial. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v.37, n.2, p.275-279, Jan. 1997.

MESTER, E.; SZENDE, B.; SPIRY, T.; SCHER, A. Stimulation of wound healing by Laser rays. **Acta Chir Hung**. 13: 3/315-824, 1972.

MESTER, E.; JASZSAGI-NAGY, E. The effect of laser radiation on wound healing and collagen biosynthesis. **Stud Biophys.**, v.35, p.227-230, 1973.

MESTER, E.; NAGYLUCSKAY, S.; TRIZA, S. AND MESTER, A. Stimulation of wound healing by means of laser rays. **Acta Chir Acad Sci**, v.19, p.163–171, 1978.

MIGLIORATI, C.A.; MIGLIORATI, E. K. Medicina bucal: A nova era da odontologia. In: FELLER, C.; GORAB, R. **Atualização na Clínica Odontológica**. São Paulo: Artes Médicas, v.1, p.433-466, 2000.

MIGLIORATI, C.; MASSUMOTO, C.; EDUARDO, F. P.; MULLER, K.P.; CARRIERI, T.; HAYPEK, P.; EDUARDO, C.P. Low-energy Laser Therapy in Oral Mucositis. **Science**, v.1, n.2, p.97-101, 2001.

MIGLIORATI, C. A.; OBERLE-EDWARDS, L.; SCHUBERT, M. The role of alternative and natural agents, cryotherapy, and/or laser for management of alimentary mucositis. **Supp C Cancer**, v.14, n.6, p.533–540, Jun, 2006.

National Cancer Institute NCI: 2004 Acesso em 18 de outubro de 2010 [<http://www.nci.nih.gov/cancer/info/pdq/supportivecare/oral%20complications/healthprofessional>].

NEVILLE, B. W.; DAMM, D. D.; ALLEN, C. M.; BOUQUOT, J. E. Injúrias físicas e químicas. In: NEVILLE, B. W.; DAMM, D. D.; ALLEN, C. M. **Patologia oral & maxilofacial**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, Cap.8, p.205-29, 2004.

NOTTAGE, M.; MCLACHLAN, S. A.; BRITAIN, M. A.; OZA, A.; HEDLEY, D.; FELD, R. *et al.* Sucralfate mouthwash for prevention and treatment of 5-fluorouracil-induced mucositis: a randomized, placebo-controlled trial. **Supp Care Cancer** v.11; n.1 p. 41–7, 2003.

NIDERMEIER, W.; MATTHAEUS, C.; HORI, M.; MEYER, C.; STAAR, S.; MULLER, R. P.; SCHULZE, H. J. Radiation-induced hyposalivation and its treatment with oral pilocarpine. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.86, n.5, p.541-549, Nov. 1998.

OGUCHI, M.; SHIKAMA, N.; SASAKI, S.; GOMI, K.; KATSUIAMA, Y.; OHTA, S.; HORI, M.; TAKEI, K.; ARAKAWA, K.; SONE, S. Mucosa-adhesive water-soluble polymer film for treatment of acute radiation-induced oral mucositis. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v.40, n.5, p.1033-1037, Mar.1998.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Handbook for reporting results of cancer treatment**. Geneve, p.15-22, 1979.

OVERHOLSER, C.D. JR. Oral Care for Cancer Patient. **Handbook of Supportive Care in Cancer**. New York, p.125-45, 1995.

PACHECO, I. P. Efeitos das radiações sobre as células. In: VII Congresso Brasileiro de Citologia, **Anais Guarujá**, 1976. p.103.

PETERSON, D. E. Pretreatment Strategies for Infection Prevention in Chemotherapy Patients. **NCI Monograf**, n.9, p.61-71, 1990.

PETERSON, D. E. Research advances in oral mucositis. **Curr Opin Oncol**, v.11, 261 – 266, 1999.

PLEVOVÁ, P. Prevention and treatment of chemotherapy- and radiotherapy- induced oral mucositis: a review. **Oral Oncology**. n.35, p.453-70, 1999.

PINDBORG, J. J. **Atlas of disease of the oral mucosa**. Copenhagen: Munksgaard 5ed., 1993. p.399.

PINHEIRO, A. L. B.; LIMEIRA JÚNIOR., GERBI, M.; RAMALHO, L.; MARZOLA, C.; PONZI, E. Effect of low level Laser therapy on the repair of bone defects grafted with inorganic bovine bone. **Braz Dent J**, v.14, n.3, 2003.

PINHEIRO, A.L.B.; BRUGNERA JÚNIOR, A.; ZANIN, F. A. A. **Aplicação do Laser na Odontologia**, São Paulo: Ed Santos, 2010. 436p.

PITTEN, F.A.; KIEFER, T.; BUTH, C., DOELKEN, G.; KRAMER, A. Do cancer patients with chemotherapy-induced leukopenia benefit from an antiseptic chlorhexidine-based oral rinse? A double-blind, block-randomized, controlled study. **J Hosp Infect**, v.53, p. 283-91, 2003.

RABER- DURLACHER, J. E.; ELAD, S. and BARASCH, A. Oral mucositis. **Oral Oncol**, v.46, p.452–456, 2010.

RADERER, M.; KORNEK, G.; HEJNA, M.; KOPERNA, K.; SCHEITHAUER, W.; BASE, W. Topical granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with cancer and impaired wound healing. **J Natl Cancer Inst**, v.89, p. 263, 1997.

RAHN, R.; ADAMIETZ, I. A.; BOETTCHER, H. D.; SCHAEFER, V.; REIMER, K.; FLEISHER, W. Povidone-iodine to prevent mucositis in patient during antineoplastic radio-chemoterapy. **Dermatol**, v.195, n.2, p.57-61, May 1997.

RIBEIRO, M. S. **Interação da radiação laser linearmente polarizada de baixa intensidade com tecidos vivos: Efeitos na aceleração de cicatrização tissular em lesões de pele**. Tese de Doutorado na área de Tecnologia Nuclear- Materiais, IPEN/ USP, 2000.

RIBEIRO, M. S. Apostila do curso de Mestrado em Laser na Odontologia. **IPEN/FOUSP**. 2002.

RIBEIRO, M.S.; ZECELL, D.M. Laser de baixa intensidade. In: EDUARDO, C.P. e GUTKNECHT, N. A Odontologia e o laser: atuação do laser na especialidade odontológica. São Paulo: Quintessence Editora Ltda, p.217-240, 2004.

RIEKE, J. W.; HAFERMANN, M. D.; JOHNSON, J. T.; LEVEQUE, F. G.; IWAMOTO, R.; STEIGER, B. W.; MUSCOPLAT, C.; GALLAGHER, S. C. Oral pilocarpine for radiation-induced xerostomia: integrated efficacy and safety results form two prospective randomized clinical trials. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v.31, n.3, p.661-669, Feb, 1995.

ROCHKIND, S.; LEIDER-TREJO, L.; NISSAN, M.; SHAMIR, M. H.; KHARENKO, O.; ALON, M. Efficacy of 780nm laser phototherapy on peripheral nerve regeneration after neurotube reconstruction procedure (double-blind randomized study). **Photomed Laser Surg**, v.25, n.3, p.137-143, 2007.

ROCKE, L.K.; LOPRINZI, C.L.; LEE, J.K. *et al.* A randomized clinical trial of two different durations of oral cryotherapy for prevention of 5-fluorouracil-related stomatitis. **Cancer**, v.72, n.7, p. 2234-38, Oct 1993.

SACONO, N. T. **Uso de LED vermelho em mucosite induzida por quimioterapia.** Dissertação de Mestrado, São Paulo: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araraquara, 2007.

SANTOS, P. S. S.; MESSAGGI, A. C.; MANTESSO, A.; MAGALHÃES, M. H. C. G. Mucosite oral: perspectivas atuais na prevenção e tratamento. **RGO**, v. 57, n.3, p. 339-344, 2009.

SASAKI, K.; OHSHIRO, T. Role of low reactive-level laser therapy (LLLT) in the treatment of acquired and cicatricial vitiligo. **Laser Therapy**, v.1, n.3, p.141-144, 1989.

SCARANTINO, C.; LEVEQUE, F.; SWANN, R.S.; WHITE, R.; SCHULSINGER, A.; HODSON, D.I. *et al.* Effect of pilocarpine during radiation therapy: results of RTOG 97-09, a phase III randomized study in head and neck cancer patients. **T J Supp Oncolog**, v.4, n.5, p.252-8, 2006.

SCHRATER-SEHN, A.U.; SCHIMIDT, W.F.; KIELHAUSE, R.; LANGER, H.; KARCHER, K. H. The prevention of mucosal lesions during oropharyngeal irritation with a dental-filling shield. **Strahlenther Onkol**, v.168, n.1, p.35-38, Jan.1992.

SCHWARTZ, C. L. Long-Term Survivors of Childhood Cancer: The Late Effects of Therapy. **T Oncol**, v.4, p.45-54, 1999.

SCULLY, C.; EPSTEIN, J.B. Oral health care for the cancer patient. **Oral Oncol, Eur J Cancer**, v.32B, n.5, p.281-292, 1996.

SILVA, E. M.; GOMES, S. P.; ULBRICH, L. M.; GIOVANINI, A. F. Avaliação histológica da laserterapia de baixa intensidade na cicatrização de tecidos epitelial, conjuntivo e ósseo: estudo experimental em ratos. **RSBO**, v.4, n.2, p.29-35, 2007.

SMITH-AGREDA, V.; FERES, E.; MONTESINO, M.; SMITH-FERES, E.; PEREZ, J.; ZABALETA, M. Alteraciones de la ciclosis celular adeno-hipofisária tras la estimulación com laser He- Ne e IR. **Inv clin laser III**, v.3, p.99-105. 1986.

SMITH, K. The photobiological basis of low level laser radiation therapy. **Laser Ther**, v.3, p.19-25, 1991.

SOMMER, A.P., PINHEIRO, A.L.B., MESTER, A.R., FRANKE, R.P., AND WHELAN, H.T. Biostimulatory windows in low-intensity laser activation: lasers, scanners and NASA's light-emitting diode array system. **J Clin Laser Med Surg**, v.19, p.29-34, 2001.

SONIS, S. T.; SONIS, A. L. and LIEBERMAN, A. Oral complications in patients receiving treatment for malignancies other than of the head and neck. **J Am Dent Assoc** v.97, n.3, p.468–472, Sep 1978.

SONIS, S. T.; TRACEY, C.; SHKLAR, G.; JENSON, J.; FLORINE, D. An animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. *Oral Surg* **Oral Med Oral Pathol**, v.69, p.437-43, 1990.

SONIS, S. T. Oral complications of cancer therapy. In: DE VITA V.T. et al. **Cancer: Principles and Practice of Oncology**. Philadelphia, p.2385- 93, 1993.

SONIS, S. T. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of a chemotherapy- induced stomatotoxicity. **Oral Oncol**, v.34, p.39-43, 1998.

SONIS, S.T.; EILERS, J.P.; EPSTEIN, J.B.; *et al.* Validation of a new scoring system for the assessment of clinical trial research of oral mucositis induced by radiation or chemotherapy. **Cancer**, v. 85, n.10, p.2103- 2113, 1999.

SONIS, S.T.; PETERSON, R. L.; EDWARDS, L. J.; LUCEY, C. A.; WANG, L.; MASON, L.,*et al.* Defining mechanisms of action of interleukin-11 on the progression of radiation-induced oral mucositis in hamsters. **Oral Oncol**; v.36, p.373-81, 2000.

SONIS, S. T. The pathobiology of mucositis. **Nat Rev Cancer**, v.4; p.277–284, 2004.

SONIS, S. T.; ELTING, L. S.; KEEFE, D. *et al.* Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. **Cancer**, v.100, p.1995–2025, 2004.

SONIS, S.; HADDAD, R.; POSNER, M. *et al.* Gene expression changes in peripheral blood cells provide insight into the biological mechanisms associated with regimen-related toxicities in patients being treated for head and neck cancers. **Oral Oncol** v. 43 n.3, p.289–300, Mar, 2007.

SONIS, S.; TREISTER, N.; CHAWLA, S. *et al.* Preliminary characterization of oral lesions associated with inhibitors of mammalian target of rapamycin in cancer patients. **Cancer**, v.116, p. 210–215, 2010.

SPIELBERGER, R.; STIFF, P.; BENSINGER, W. *et al.* Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. **N Engl J Med**, v.351, n.25, p.2590–2598, Dec, 2004.

SPIJKERVET, F. K. L. **Irradiation mucositis**. Copenhagen: Munksgaard, 1991. 136p.

SREEBNEY, L. M.; ZHU, W. X.; SCHWARTZ, S. S.; MEEK, A. G. The preparation of an autologous saliva for use with patients undergoing therapeutic radiation for head and neck cancer. **J Oral Maxillofac Surg**, v.53, n.2, p.131-139, Feb. 1995.

STRONG, L. H.; BERTHIAUME, F. Control of fibroblast populated collagen lattice contraction by antibody targeted photolysis of fibroblasts. **Laser Surg Med**,v.21,p.235-247, 1997.

SYMONDS, R. P. Treatment-induced mucositis: an old problem with new remedies. **Br J Cancer**, v.77, n.10, p.1689-1696, May. 1998.

TAMURA, M. Non-invasive monitoring of the redox state of cytochrome oxidase in living tissue using near-infrared laser lights. **Jpn Circul J**, v.57, p.817–824, 1993.

TRELLES, M. A. Laser clínico aplicações em várias especialidades. In: Pimenta, L. H. M. **Laser em medicina e biologia**. São Paulo: Roca, v.1, p. 85, 1990.

WAGNER, W.; ALFRINK, M.; HAUS, U.; MATT, J. Treatment of irradiation-induced mucositis with growth factors (rh GM-CSF) in patients with head and neck cancer. **Anticancer Res**, v.19, n.1b, p.799-803, Jan./Feb. 1999.

WANDA, A. AND. DORSETT, M. Rat models of skin wound healing: A review. **Wou Rep Reg**, v.12, n.6, 591, 2004.

WHELAN, H. T.; HOULE, J. M.; DONOHOE, D. M.;BAJIC, D. L.; SCHIMIDT, M. H.; REICHERT, K. W.; WEYENBERG, G.T; LARSON, D. L.; MEYER, G. A.; CAVINESS, J. A. Medical applications of space light-emitting diode technology- Space station and beyond. **Space Tech Appl Int Forum**, v.458, p.3- 15, 1999.

WHELAN, H. T.; HOULE, J. M.; WHELAN, N. T., *et al.* The NASA light-emitting diode medical program—progress in space flight and terrestrial applications. **Space Tech Appl Intl Forum** v.504, p.37–43, 2000.

WHELAN, H. T.; SMITS, R. L.; BUCHMANN, E. V.; WHELAN, N. T.;TURNER, S. G.; MARGOLIS, D. A.; CEVENINI, V.; STINSON, H.; IGNATIUS, R.; MARTIN, T.; CWIKLINSK, J.; PHILIPPI, A. F.; GRAF, W. R.; HODGSON, B.;GOULD, L.; KANE, M.; CHEN, G.; CAVINESS, J. Effect of NASA Light-Emitting Diodes irradiations on wound healing. **J of Clinical Laser Medicine & Surgery**, v.19, n.6, p.305-314, 2001.

WHELAN, H. T.; CONELLY, J. F.; HODGSON, B. D.; BARBEAU, L.; POST, A. C.; BULLARD, G.; BUCHMANN, E. V.; KANE, M.; WHELAN, N. T.; WARWICK, A.; MARGOLIS, D. NASA Light-Emitting Diodes for the prevention of oral mucositis in pediatric bone marrow transplant patients. **J of Clinical Laser Medicine & Surgery**, v.20, n.6, p. 319-324, 2002.

WHELAN, H. T.; BUCHMANN, E. V.; DHOKALIA, A.; KANE, M. P.; WHELAN, N. T.; WONG-RILEY, M. T. Effect of NASA Light-Emitting Diode irradiation on molecular changes for wound healing in diabetic mice. **J Clin Laser Med Surg**, v.2, n.2, p.67-74, 2003.

WILKES, J. D. Prevention and treatment of oral mucositis following cancer therapy. **Semin Oncol**, v.25, p.538 – 551, 1998.

WONG-RILEY, M. T. T.; BAI, X.; BUCHMANN, E.; WHELAN, H.T. Light-emitting diode treatment reverses the effect of TTX on cytochrome oxidase in neurons. **Neuro Report**, v.12, n.148, p.3033-3037, 2001.

VACHA, P.; FEHLAUER, F.; MAHLMANN, B.; MARX, M.; HINKE, A.; SOMMER, K.; RICHTER, E.; FEYERABEND, T. Randomized phase III trial of postoperative

radiochemotherapy +/- amifostine in head and neck cancer. Is there evidence for radioprotection? **Strahlenther Onkol**, v.179, p.385-389, 2003.

VALDEZ, I. H ; WOLFF, A.; ATKINSON, J. C.; MACYNSK, R. N.; FOX, P.C. Use of pilocarpine during head and neck radiation therapy to reduce xerostomia and salivary dysfunction. **Cancer**, v.71, n.5, p.1848-1851, Mar. 1993.

VAN DER LELIE, H.; THOMAS, B.L.; VAN OERS, R.H.; EK-POST, M., SJAMSOEDIN, S.A.; VAN DIJK-OVERTOOM, M.L. *et al.* Effect of locally applied gmcsf on oral mucositis after stem cell transplantation: a prospective placebo-controlled double-blind study. **Annals of hematology**; v.80, n.3, p.150-4, 2001.

VAN DER SCHUREN, E.; VAN DER BOGAERT, W.; VANUYTSEL, L.; VAN LIMBERGEN, E. Radiotherapy by multiple fractions per day (MFD) in head and neck cancer: acute reactions of skin and mucosa. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v.19, n.2, p.301-311, Aug. 1990.

VOKURKA, S.; BYSTRICKA, E.; KOZA, V.; SCUDLOVA, J.; PAVLICOVA, V.; VALENTOVA, D. *et al.* The comparative effects of povidone-iodine and normal saline mouthwashes on oral mucositis in patients after high-dose chemotherapy and APBSCT--results of a randomized multicentre study. **Supp Care Cancer**, v.13; n.7; p.554-8, 2005.

VOKURKA, S.; BYSTRICKA, E.; KOZA, V. *et al.* Higher incidence of chemotherapy induced oral mucositis in females: a supplement of multivariate analysis to a randomized multicentre study. **Support Care Cancer**, v.14, n.9, p.974-976, Sep. 2006.

YAMAMURA, K.; OHTA, S.; YANO, K.; YOTSUYANAGI, T.; OKAMURA, T.; NABESHIMA, T. Oral mucosal adhesive film containing local anaesthetics: in vitro and clinical evaluation. **J Biomed Master Res**, v.43, n.3, p.313-317, Dec. 1998.

YAMADA, K. Biological effects of low-power laser irradiation on clonal osteoblastic cells (MC3T3-E1). **J. Jpn. Orthop. Assoc**, v.65, p.787-799, 1991.

YU, W., NAIM, J.L., AND LANZAFAME, R.J. The effect of laser irradiation on the release of bFGF from 3T3 fibroblasts. **Photochem.Photobiol**, v.59, p.167-171, 1994.

ZALCBURG, J.; KERR, D.; SEYMOUR, L.; PALMER, M. Haematological and nonhaematological toxicity after 5-fluorouracil and leucovorin in patients with advanced colorectal cancer is significantly associated with gender, increasing age and cycle number. **Eur J Cancer**, v.34, n.12; p.1871-1875, Nov, 1998.

ZAKERZEWSKA, J. M.; LEESON, R.M.; MC LUSKEY, M. VICKERS, M. The development of patient information leaflets. Care of the mouth after radiotherapy. **Gerodontology**, v.14, n.1, p.48-53, July 1997.

ZEZELL, D. M *et al.* "Workshop": Utilização clínica do Laser. **Apostila de curso**. ABO-Nacional, FOU SP, FUNDECTO, IPEN, ABLO. São Paulo, 2001.

ZIMMERMAN, R. P.; MARK, R. J.; TRAN, L. M.; JUILLARD, G. F. Concomitant pilocarpine during head and neck irradiation is associated with decreased post treatment xerostomia. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v.37, n.3, p.571-575, Feb.1997.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Comissão de Ética na Experimentação Animal

UFBA - Faculdade de Odontologia - Av. Araújo Pinho, 62 - Canela
CEP: 40.140-110 - Salvador - BA - Tel: (71) 336-5976
Home-page: www.ufba.br

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa "ESTUDO CLÍNICO LABORATORIAL DA UTILIZAÇÃO DE LASERS E LEDS NA PREVENÇÃO E TERAPIA DA MUCOSITE ORAL NOS TRATAMENTOS DE RADIOTERAPIA E QUIMIOTERAPIA- 09/08" de autoria de **ANTONIO LUIZ B. PINHEIRO**, foi analisado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal e considerado **APROVADO** em reunião ordinária realizada nesta data.

Salvador, 03 de Junho de 2008

Prof. Antonio Luiz B. Pinheiro
Presidente

APÊNDICE 1 – TABULAÇÃO DOS DADOS DA AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DOS ESPÉCIMES

Fibrose	preventivo		tratamento		Fibrose	preventivo		tratamento		
	laser 660nm	7d	14d	7d		14d	laser 780nm	7d	14d	7d
0+		3	0	3	1	0+	3	0	0	4
1+		17	16	9	7	1+	17	19	18	8
2+		0	0	8	12	2+	0	1	2	8
3+		0	4	0	0	3+	0	0	0	0
n		20	20	20	20	n	20	20	20	20

Céls. Gigantes	preventivo		tratamento		Céls. Gigantes	preventivo		tratamento		
	laser 660nm	7d	14d	7d		14d	laser 780nm	7d	14d	7d
0+		20	20	20	20	0+	20	20	20	20
1+		0	0	0	0	1+	0	0	0	0
2+		0	0	0	0	2+	0	0	0	0
3+		0	0	0	0	3+	0	0	0	0
n		20	20	20	20	n	20	20	20	20

Congestão vascular	preventivo		tratamento		Congestão vascular	preventivo		tratamento		
	laser 660nm	7d	14d	7d		14d	laser 780nm	7d	14d	7d
0+		8	13	1	18	0+	5	14	10	17
1+		11	7	16	2	1+	7	4	10	3
2+		1	0	2	0	2+	5	2	0	0
3+		0	0	0	0	3+	3	0	0	0
n		20	20	19	20	n	20	20	20	20

Inflamação	preventivo		tratamento		Inflamação	preventivo		tratamento		
	laser 660nm	7d	14d	7d		14d	laser 780nm	7d	14d	7d
0+		20	16	10	18	0+	13	10	16	19
1+		0	4	10	2	1+	7	10	4	1
2+		0	0	0	0	2+	0	0	0	0
3+		0	0	0	0	3+	0	0	0	0
n		20	20	20	20	n	20	20	20	20

Necrose	preventivo		tratamento		Necrose	preventivo		tratamento		
	laser 660nm	7d	14d	7d		14d	laser 780nm	7d	14d	7d
0+		20	20	15	20	0+	19	19	19	19
1+		0	0	1	0	1+	1	0	0	1
2+		0	0	3	0	2+	0	1	1	0
3+		0	0	1	0	3+	0	0	0	0
n		20	20	20	20	n	20	20	20	20

Fibrose	preventivo		tratamento		Fibrose	preventivo		tratamento	
	LED670nm	7d	14d	7d		14d	LED850nm	7d	14d
0+	7	11	4	0	0+	7	7	0	6
1+	5	1	4	6	1+	9	10	16	10
2+	8	8	8	14	2+	4	3	4	4
3+	0	0	0	0	3+	0	0	0	0
n	20	20	16	20	n	20	20	20	20

Céls. Gigantes	preventivo		tratamento		Céls. Gigantes	preventivo		tratamento	
	LED670nm	7d	14d	7d		14d	LED850nm	7d	14d
0+	20	20	16	20	0+	20	20	20	20
1+	0	0	0	0	1+	0	0	0	0
2+	0	0	0	0	2+	0	0	0	0
3+	0	0	0	0	3+	0	0	0	0
n	20	20	16	20	n	20	20	20	20

Congestão vascular	preventivo		tratamento		Congestão vascular	preventivo		tratamento	
	LED670nm	7d	14d	7d		14d	LED850nm	7d	14d
0+	17	20	9	0	0+	20	20	20	20
1+	3	0	7	18	1+	0	0	0	0
2+	0	0	0	2	2+	0	0	0	0
3+	0	0	0	0	3+	0	0	0	0
n	20	20	16	20	n	20	20	20	20

Inflamação	preventivo		tratamento		Inflamação	preventivo		tratamento	
	LED670nm	7d	14d	7d		14d	LED850nm	7d	14d
0+	20	19	8	6	0+	17	20	20	20
1+	0	1	6	13	1+	3	0	0	0
2+	0	0	2	1	2+	0	0	0	0
3+	0	0	0	0	3+	0	0	0	0
n	20	20	16	20	n	20	20	20	20

Necrose	preventivo		tratamento		Necrose	preventivo		tratamento	
	LED670nm	7d	14d	7d		14d	LED880nm	7d	14d
0+	19	20	16	20	0+	20	20	12	8
1+	0	0		0	1+	0	0	0	4
2+	1	0	0	0	2+	0	0	5	0
3+	0	0	0	0	3+	0	0	3	8
n	20	20	16	20	n	20	20	20	20

Fibrose	com quimioterapia		sem quimioterapia	
Controle	7d	14d	7d	14d
0+	3	3	4	2
1+	1	1	0	2
2+	1	1	0	2
3+	0	0	0	0
n	5	5	4	6

Céls. Gigantes	com quimioterapia		sem quimioterapia	
controle	7d	14d	7d	14d
0+	5	5	4	6
1+	0	0	0	0
2+	0	0	0	0
3+	0	0	0	0
n	5	5	4	6

Congestão vascular	com quimioterapia		sem quimioterapia	
controle	7d	14d	7d	14d
0+	5	5	4	6
1+	0	0	0	0
2+	0	0	0	0
3+	0	0	0	0
n	5	5	4	6

Inflamação	com quimioterapia		sem quimioterapia	
controle	7d	14d	7d	14d
0+	3	5	4	6
1+	2	0	0	0
2+	0	0	0	0
3+	0	0	0	0
n	5	5	4	6

Necrose	com quimioterapia		sem quimioterapia	
controle	7d	14d	7d	14d
0+	5	5	4	6
1+	0	0	0	0
2+	0	0	0	0
3+	0	0	0	0
n	0	5	4	6