



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO USO DE FATORES DE
CRESCIMENTO EM ORABASE E LASERTERAPIA NO
TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL EM PACIENTES
SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO
HEMATOPOIÉTICAS**

CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL

RECIFE

2013

CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO USO DE FATORES DE
CRESCIMENTO EM ORABASE E LASERTERAPIA NO
TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL EM PACIENTES
SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO
HEMATOPOIÉTICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do grau de Doutor em
Odontologia, com área de concentração em Clínica
Integrada.

Orientadora: Prof.^a Dr^a Jurema Freire Lisboa de
Castro

RECIFE

2013

Catálogo na fonte
Bibliotecária Gláucia Cândida, CRB4-1662

B823a Brasil, Catarina da Mota Vasconcelos.
Avaliação da eficácia do uso de fatores de crescimento em orabase e laserterapia no tratamento da mucosite de células tronco hematopoéticas / Catarina da Mota Vasconcelos Brasil. – Recife: O autor, 2014.
106f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Jurema Freire Lisboa de Castro.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Pós-graduação em Odontologia, 2014.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas. 2. Estomatite. 3. Lasers. 4. Peptídeos e Proteínas de Sinalização Intercelular. I. Castro, Jurema Freire Lisboa de (Orientadora). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2014-194)

CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO USO DE FATORES DE CRESCIMENTO EM
ORABASE E LASERTERAPIA NO TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL EM
PACIENTES SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO
HEMATOPOIÉTICAS**

BANCA EXAMINADORA

DATA DA DEFESA: 09 DE SETEMBRO DE 2013

Professor. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes - Presidente

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Julgamento: Aprovada Assinatura _____

Professora. Dra. Lélia batista de Souza - 2º Examinador

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Julgamento: Aprovada Assinatura _____

Professora. Dra. Marlene Elizabeth Marquez de Martinez Gerbi - 3º Examinador

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Julgamento: Aprovada Assinatura _____

Professora. Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Julgamento: Aprovada Assinatura _____

Professor. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez - 5º Examinador

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Julgamento: Aprovada Assinatura _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof.^a. Dr.^a. Vânia Pinheiro Ramos

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Prof.^a. Dr.^a. Jurema Freire Lisboa de Castro

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

DOUTORADO EM CLÍNICA INTEGRADA

CORPO DOCENTE

Prof.^a. Dr.^a. Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof. Dr. Arnaldo de França Caldas Júnior

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Prof. Dr. Edvaldo Rodrigues de Almeida

Prof.^a. Dr.^a. Flávia Maria de Moraes Ramos Perez

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Prof.^a. Dr.^a. Liriane Baratella Evêncio

Prof. Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Profa. Maria Luiza dos Anjos Pontual

Prof. Dr. Paulo Sávio Angeiras Goes

Prof.^a. Dr.^a. Renata Cimões Jovino Silveira

Prof.^a. Dr.^a. Silvia Regina Jamelli

Prof.^a. Dr.^a. Simone Guimarães Farias Gomes

Prof. Dr. Tibério Cesar Uchoa Matheus

MEMBRO COLABORADOR

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

SECRETARIA

Oziclere Sena de Araújo

Dedicatória

Dedico este trabalho à **Deus**, que nos ensina o porquê da vida nos momentos certos. Às vezes Ele acalma as tempestades, às vezes, Ele nos ensina a nadar. E hoje, mais que nunca, sei que nada acontece por acaso. Obrigada por iluminar minha vida!

Ao meu irmão, **Ari da Mota Vasconcelos Brasil** (*in memoriam*), pela fé de viver a vida! Pela força que nos sustentou nos momentos difíceis, por ter me ajudado diretamente a construir esta tese: através dos ensinamentos físicos-matemáticos e por ser o paciente mais especial. Dedico a você que correu atrás de todos os seus sonhos e enfrentou a vida de forma deslumbrante. Hoje, nossos corações são um só! Te amo demais!

Agradecimentos especiais

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu marido, **Waldemir Simões Borba Júnior**, pelo companheirismo diário, apoio, paciência, força. Você é o melhor presente da minha vida! Te amo muito!

Ao meu pai, **Ari Brasil**, (*in memoriam*), por ser minha constante fonte de inspiração.

À minha mãe, **Rosélia da Mota de Vasconcelos Brasil**, por ser a melhor mãe do mundo! Tenho muito orgulho de ser sua filha. Meu muito obrigada!

À minha família, em especial, a minha sogra, **Maria Marta de Oliveira**, aliás, minha sograsta! Obrigada pelo apoio, presença e amor por nós!

À Prof.^a Dr.^a **Jurema Freire Lisboa de Castro**, pelo apoio, pela compreensão nos momentos difíceis, pelo incentivo e pela orientação.

À **Marianna Sampaio Serpa**, pela disponibilidade, responsabilidade e ajuda na execução deste trabalho.

À **Andreza Veruska Lira Correia**, pela oportunidade da amizade, disponibilidade e disposição! Você fez parte desta conquista! Obrigada por tudo!

À Prof.^a Dr.^a **Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho**, e aos alunos **Jéfferson Luis de Almeida Silva e Georgea Gertrudes de Oliveira Mendes Cahú**, pela colaboração fundamental para realização da parte laboratorial da pesquisa no LIKA.

Aos professores da graduação, em especial à **Márcia Maria Vendiciano Barbosa Vasconcelos**, por ter me incentivado a iniciar trabalhos de pesquisa, além de ser sempre carinhosa; à **Marleny Elizabeth Márquez de Martínez Gerbi**, por ter me ‘apresentado’ ao laser e despertado meu interesse pela técnica.

Ao Professor, Amigo e Pai Postiço, **José Ricardo Dias Pereira**, pelo constante apoio, presença e carinho!

Ao Dr. **Rodrigo Neves Florêncio** e equipe do **Real Hospital Português**, pelo acolhimento, confiança e por abrir as portas para realização desta pesquisa.

Aos pacientes, em especial, à **Thaís Albuquerque** (*in memoriam*), por colaborarem ativamente com este trabalho.

À **Oziclere Sena de Araújo**, pela constante colaboração!

Agradecimentos

AGRADECIMENTOS

Ao Reitor da Universidade Federal de Pernambuco **Prof. Drº Anísio Brasileiro De Freitas Dourado.**

Ao Vice-Reitor da Universidade Federal de Pernambuco **Prof. Drº Sílvio Romero De Barros Marques.**

Ao Pró-Reitor da Pós-Graduação **Prof. Drº Francisco De Sousa Ramos.**

Ao Diretor do Centro de Ciências da Saúde **Prof. Drº Nicodemos Teles De Pontes Filho.**

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia **Prof.^a Dr^a Jurema Freire Lisboa De Castro.**

À **FACEPE**, Pela Concessão da bolsa de estudo.

A todos **Professores do Doutorado** pelo conhecimento disponibilizado.

Aos amigos do Doutorado, em especial, à **Cláudia Cristina Brainer de Oliveira Mota, Uly Dias Nascimento Távora Cavalcanti e Talita Ribeiro França**, por esses anos de convívio e troca de conhecimentos.

Aos Funcionários da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, em especial, à **Tânia Maria de Souza Esteves**, pelos cafezinhos feitos para mim.

Epígrafe

“ Bote fé que a vida terá um novo sabor, bote

fé, bote a esperança e bote amor!”

(Papa Francisco)

Resumo

RESUMO

A mucosite oral (MO) é uma inflamação aguda da mucosa decorrente do tratamento antineoplásico que pode resultar em dor, pode limitar a fala, a mastigação e aumenta os riscos de desenvolvimento de infecções por microorganismos oportunistas. O objetivo deste estudo pioneiro foi avaliar a eficácia do uso tópico de fatores de crescimento (EGF, IGF, TGF β 3, bFGF) veiculados em orabase, associados a laserterapia para tratamento da MO em pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas. Todos os pacientes receberam LASER vermelho preventivo (685nm), em pontos específicos na mucosa bucal. Além da laserterapia terapêutica, os pacientes foram divididos em grupo A (orabase-placebo) e grupo B (orabase-fatores de crescimento). Foi coletado sangue no momento do diagnóstico da MO e ao cessá-la, realizando o ELISA para dosar a concentração sorológica dos fatores de crescimento. Observou-se uma redução do número de dias de MO nos pacientes do Grupo B (5,14 dias) em relação ao grupo A (7,28 dias) ($p=0,019$), sendo necessário menos sessões de laserterapia (4,89 sessões) em relação ao Grupo A (5,72 sessões). Não houve associação entre a concentração dos fatores de crescimento nos grupos avaliados e presença de mucosite. A utilização de fatores de crescimento tópico associado à laserterapia pode ser uma alternativa terapêutica para o tratamento da MO.

Palavras-chave: Transplante de células-tronco hematopoiéticas. Mucosite Oral. LASER. Fatores de crescimento.

Abstract

ABSTRACT

Oral mucositis (OM) is an acute inflammation of the mucosa due to the anticancer treatment can result in pain may limit speech and chewing increases the risk of developing opportunistic infections by microorganisms. The aim of this study was to evaluate the efficacy of topical growth factors (EGF, IGF, TGF β 3, bFGF) on orabase ointment associated with laser therapy for treatment of OM in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. All patients received prophylactic red laser (685nm), at specific points in the oral mucosa. Besides the therapeutic laser therapy, patients were divided into group A (orabase ointment-placebo) and group B (orabase ointment-growth factors). Blood was collected at diagnosis of OM and it ceases, performing the ELISA to quantitate the concentration of serological growth factors. We observed a reduction in the number of days of MO patients in group B (5.14 days) than in group A (7.28 days) ($p = 0.019$), requiring fewer sessions of laser therapy (4, 89 sessions) compared to Group A (5.72 sessions). There was no association between the concentration of growth factors in the study groups and the presence of mucositis. The use of topical growth factors associated with laser therapy may be an alternative therapy for the treatment of OM. There was a reduction in the number of days with MO.

Key words: Steam Cell Transplantation. Oral mucositis. LASER. Growth Factors.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição do diagnóstico de doença, quimioterápico e tipo de transplante.	99
Tabela 2 - Distribuição do número de pacientes com mucosite, o grau de mucosite oral e tipo de pomada usada	100
Tabela 3 – Número de sessões de laser no tratamento e número médio de dias da mucosite oral segundo o tipo de fatores de crescimento.	102
Tabela 4: Teste não paramétrico de MannWhitney para as variáveis EGF, FGF, IGF e TGF no momento da mucosite oral e após cessá-la.	102

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Boxplot para número de dias da mucosite oral
segundo o grau máximo de mucosite. 101

Figura 2 - Boxplot para número de dias da mucosite oral
segundo o tipo de pomada. 101

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO-----	23
2. DESENVOLVIMENTO -----	26
2.1. Tipos de transplante de células-tronco hematopoiéticas-----	27
2.2. Dados estatísticos-----	27
2.3. Células-tronco hematopoiéticas-----	27
2.4. Etapas do transplante-----	28
2.4.1. Regime de condicionamento-----	28
2.4.2. Descongelamento do enxerto-----	28
2.4.3. Infusão das células-----	29
2.4.4. Enxertia ou ‘pega da medula’-----	29
2.5. Complicações relacionadas ao transplante de células-tronco hematopoiéticas--	30
2.6. Mucosite oral-----	30
2.7. Laserterapia de baixa intensidade-----	36
2.8. Histórico do laser-----	36
2.9. Propriedades da luz laser-----	37
2.10. Mecanismo de ação-----	38
2.11. Interação laser/tecido-----	39
2.12. Cicatrização-----	40
2.13. Laserterapia x cicatrização-----	41
2.14- laserterapia x mucosite oral-----	43
2.15 - Fatores de crescimento-----	47
2.16 - Fator de crescimento epidermal (egf)-----	48
2.17- Fator de crescimento fibroblástico (fgf)-----	49
2.18- Fator de crescimento transformador beta (tgf)-----	50
2.19- Fator de crescimento semelhante à insulina (igf)-----	51

2.20- Uso t3pico de fatores de crescimento-----	51
2.21- Laserterapia x fatores de crescimento-----	52
3. OBJETIVOS-----	56
4. METODOLOGIA-----	58
4.1. Tipo de estudo-----	58
4.2. Crit3rios de elegibilidade-----	58
4.3. Crit3rios de exclus3o-----	58
4.4. C3lculo da amostra-----	59
4.5. Protocolo-----	59
5. RESULTADOS-----	64
6. CONCLUS3ES-----	66
REFER3NCIAS-----	67
AP3NDICES-----	81
Ap3ndice A - Termo de consentimento livre e esclarecido-----	81
Ap3ndice B – Ficha cl3nica-----	83
Ap3ndice C – Artigo- -----	85
Ap3ndice D – Artigo-----	103
Ap3ndice E – Artigo-----	104
ANEXOS-----	106
Anexo A - Aprova3o do Comit3 de 3tica em Pesquisa-----	106

1 INTRODUÇÃO

O Transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) apresenta-se como opção terapêutica na abordagem de pacientes com doenças onco-hematológicas (Ferreira *et al.*, 2011). No entanto, é importante considerar os efeitos adversos: aplasia medular, náuseas, vômitos, diarreia, a Doença do Enxerto contra o Hospedeiro (DECH) e a mucosite.

A mucosite oral (MO) ocorre em aproximadamente, 80-100% dos pacientes que recebem quimioterapia ablativa ou irradiação de corpo total (Total Body Irradiation), como condicionamento para o transplante, com grande repercussão no estado geral do paciente (Wardley *et al.*, 2000; Sonis *et al.*, 2002; Benzinelli, 2010; Flores *et al.*, 2010).

A MO é provavelmente um processo de origem multifatorial, resultado de efeitos citotóxicos da quimio e/ou radioterapia causando danos no endotélio, tecido conjuntivo e tecido epitelial. Caracteriza-se clinicamente por lesões eritematosas e ulcerativas que acometem o vermelhão dos lábios e a mucosa oral (Rubenstein *et al.*, 2004; Scully *et al.*, 2006). Além de causar injúrias e dores intensas, o custo e duração do tratamento também está diretamente relacionada com o agravamento da mucosite, visto que os pacientes submetidos a TCTH que desenvolveram a mucosite oral têm 2,7 dias a mais de nutrição parenteral, 2,6 dias a mais de internação hospitalar e o risco de desenvolver uma infecção 2,1 vezes a mais do que pacientes sem mucosite oral (Sonis *et al.*, 2001).

A literatura cita como novas alternativas para mucosite a utilização de fatores de crescimento, embora haja poucos estudos avaliando sua efetividade clínica (Hu *et al.*, 2007; Wong *et al.*, 2009). Desta forma, estudos adicionais, sobretudo estudos clínicos randomizados duplo-cegos são fundamentais para um melhor entendimento da ação e utilização de qualquer medicamento, sendo um excelente modo de obtenção de informação confiável, suficientemente precoce no ciclo de vida de uma tecnologia para efetivamente poder influenciar seu uso e

difusão. Particularmente na mucosite oral, o desenvolvimento de uma terapia efetiva contribuirá significativamente para melhorar a qualidade de vida dos pacientes submetidos à terapia antineoplásica.

Sendo assim, objetivamos avaliar a eficácia tópica dos fatores de crescimento EGF, FGF, TGF β e IGF veiculados em orabase associados à laserterapia de baixa potência no tratamento da mucosite oral em pacientes submetidos ao transplante de células-tronco hematopoiéticas.

2 DESENVOLVIMENTO

A medula óssea é o órgão formador de sangue do corpo humano, é um tecido macio, esponjoso presente no interior dos ossos. Contém células-tronco pluripotentes que possuem duas propriedades funcionais: capacidade de gerar novas células de origem (auto renovação) e de se diferenciar em qualquer uma das linhagens celulares do sangue (hemácias, leucócitos e plaquetas). São as células de origem que reconstruirão a medula destruída. Após a administração endovenosa, elas crescem subsequentemente nas cavidades medulares dos ossos chatos do receptor, em cerca de três a quatro semanas (Dulley, 2010).

O transplante de medula óssea (TMO) ou transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) apresenta-se como opção terapêutica na abordagem de pacientes com doenças onco-hematológicas, sendo considerado efetivo para o aumento da sobrevida desses pacientes. Qualquer procedimento com células progenitoras hematopoiéticas de qualquer doador e fonte que são dadas ao receptor com intenção de repovoar o sistema hematopoiético, substituindo-o total ou parcialmente. (Ferreira *et al.*, 2011).

A cada ano, milhares de crianças e adultos desenvolvem doenças cujo tratamento indicado é o transplante de medula óssea, as mais comuns são as leucemias e os linfomas (Woo *et al.*, 1993).

Segundo Massumoto (2002), as principais indicações para o TCTH são: Doenças onco-hematológicas: Leucemia Mieloide Aguda; Leucemia Mieloide Crônica; Síndromes Mielodisplásica; Linfoma não-Hodgkin; Doença de Hodgkin. Doenças Hematológicas: Anemia Aplástica Severa; Anemia de Fanconi; Hemoglobinopatias; Talassemia tipo Maior; Aplasia Congênita da Série Vermelha; Hemoglobinúria Paroxística Noturna. Doenças Oncológicas: Tumor de Testículo; Tumor de Mama; Tumor de Ovário; Tumor Pulmonar de Pequenas Células; Neuroblastoma.

2.1 TIPOS DE TRANSPLANTES DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

Os TCTH são classificados de acordo com a relação paciente-doador e a origem anatômica das células-tronco, podendo ser: autólogo (a medula do próprio paciente é coletada, armazenada e reinfundida, após um regime de condicionamento), alogênico (quando a medula provém de um doador aparentado ou do banco de medula óssea), singênico – quando o doador é um irmão gêmeo univitelino e o transplante pode ser realizado a partir de células precursoras de medula óssea, obtidas do sangue circulante de um doador ou do sangue de cordão umbilical (Wang *et al.*, 1997).

2.2 DADOS ESTATÍSTICOS

Segundo o Registro Brasileiro de Transplantes, estima-se que no Brasil, no período de janeiro a dezembro de 2012, as 48 equipes cadastradas realizaram 1753 transplantes de medula óssea (TCTH), sendo 1123 autólogos, 630 alogênicos. Pernambuco foi estado que realizou 4º maior número deste tipo de transplante (162), sendo 51 alogênicos e 111 autólogos. O Real Hospital Português realizou 124 TCTHs (7,07%), sendo 46 alogênicos (4,09%) e 78 autólogos (6,94%).

2.3 CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

As células-tronco são células que por definição têm a capacidade de se reproduzir e diferenciar-se em tecidos maduros. As principais fontes de células-tronco para o transplante são: medula óssea, sangue periférico e cordão umbilical. Existe uma célula tronco em cada 100.000 células da medula óssea (Reya *et al.*, 2001).

2.4 ETAPAS DO TRANSPLANTE

Nesta seção serão descritas as etapas do transplante de células-tronco hematopoiéticas.

2.4.1 REGIME DE CONDICIONAMENTO

É o processo de preparar o paciente para receber a medula óssea. Possui três funções vitais: *citorredução* - erradicar ou controlar a neoplasia (dispensável se a doença foi adequadamente controlada com terapia prévia) ou seja, eliminar a doença maligna, *imunossupressão* - adequada para prevenir rejeição, destruindo o estado imunológico preexistente do paciente e *criar espaço na cavidade medular*- para a proliferação das células tronco transplantadas. O regime de condicionamento consiste em quimioterapia em altas doses, com ou sem radioterapia de corpo inteiro. Há diversos regimes, usando várias combinações de quimioterapia e/ou radioterapia durante aproximadamente 5 - 10 dias. As doses das drogas e irradiação são seguidas umas das outras nos dias que antecedem a infusão da medula óssea, seguindo uma contagem regressiva até a infusão das células. Após o regime de condicionamento a contagem de células brancas será zero e as plaquetas e células vermelhas estarão muito reduzidas (Dulley *et al.*, 2010).

2.4.2 DESCONGELAMENTO DO ENXERTO

O processo de descongelamento do enxerto é realizado na unidade de transplante, vinte e quatro horas após a fase de condicionamento e todo o volume é imediatamente reinfundido no paciente por meio de cateter venoso central (Woo *et al.*, 1993).

2.4.3 INFUSÃO DE CÉLULAS

Acontece da mesma forma que uma transfusão de sangue seja qual for a fonte de células utilizadas, ocorrendo em média 24 a 72 horas após o término do regime de condicionamento. Após a infusão espera-se de 10 a 30 dias para a “pega” da medula (Sorrentino, 2004).

As células-tronco serão infundidas pelo sangue periférico, e por tropismo, se alojarão na medula óssea, iniciando a reconstituição hematopoiética do paciente (Wang *et al.*, 1997).

2.4.4 ENXERTIA OU “PEGA”

Os transplantes bem sucedidos determinam aumento do número de leucócitos, com surgimento de neutrófilos maduros em um período de 2 a 4 semanas após o TCTH. Os níveis normais de granulócitos e plaquetas só aparecem ao redor do 40º dia e o hematócrito normaliza-se entre os dias 60 e 90 dias após o TCTH. A imunidade celular e humoral fica deficientes por aproximadamente 4 meses após o transplante (INCA, 2011).

Não há uma definição única, segundo o Centro Internacional de Pesquisa em Sangue e Transplante de Medula (CIBMTR) é considerada ‘pega’ da medula, quando os neutrófilos ficam acima de $500/\text{mm}^3$ por pelo menos 3 dias consecutivos (primeiro dia), plaquetas acima $20.000/\text{mm}^3$ após 07 dias sem TX (primeiro dia), hematopoiese adequada com independência transfusional e quando há prova de que a célula é do doador (“Quimerismo”) (Bader *et al.*, 2005).

2.5 COMPLICAÇÕES RELACIONADA AO TCTH

No entanto, é importante considerar os efeitos colaterais decorrentes do TCTH, dentre os quais se destacam: aplasia medular, náuseas, vômitos, diarreia, a Doença do Enxerto contra o Hospedeiro (DECH) e a mucosite. Esta última ocorre em, aproximadamente, 80-100% dos pacientes que recebem quimioterapia ablativa ou irradiação de corpo total, como condicionamento para o transplante, com grande repercussão no estado geral do paciente, sendo significativamente associada ao aumento da mortalidade geral por este agravo (Wardley *et al.*, 2000; Sonis *et al.*, 2002; Benzinelli, 2010; Flores *et al.*, 2010; Epstein *et al.*, 2012).

Em decorrência da quimioterapia, alterações na cavidade oral podem ser observadas e levar a complicações sistêmicas importantes, podendo aumentar o tempo de internação hospitalar, os custos do tratamento e afetar diretamente a qualidade de vida dos pacientes (Deenen *et al.*, 2011; Hoffmann *et al.*, 2012). As principais complicações orais encontradas são as infecções fúngicas e virais, a redução do paladar, alteração da microbiota oral e cárie dentária, assim como alterações dos tecidos dentais, craniofaciais e nas glândulas salivares e mucosite oral (MO) são observadas decorrentes da terapia imunossupressora para TCTH (Orsi, 2011). Tais manifestações resultam em dores severas, perda de peso devido à dificuldade de se alimentação, aumento de tempo de internação e maior necessidade de recursos medicamentosos (Del Fante *et al.*, 2011).

2.6 MUCOSITE ORAL

A mucosite oral (MO) já foi relatada como a complicação de mais debilitante do TCTH. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a incidência do terceiro e quarto grau da mucosite oral pode chegar até 75% dos pacientes com alterações hematológicas que estão sobre

tratamento quimioterápico. Geralmente ocorre entre o quarto e sétimo dia após o transplante devido às altas doses de quimioterápicos dias antes do transplante, associado ou não a radioterapia, que visam suprimir as células imunocompetentes para que o enxerto possa se proliferar (Lalla *et al.*, 2009; Mancusi Sobrinho *et al.*, 2009).

Além de causar injúrias e dores intensas, o custo e duração do tratamento também está diretamente relacionada com o agravamento da mucosite, visto que pacientes submetidos a TCTH que desenvolveram a mucosite oral têm 2,7 dias a mais de nutrição parenteral, 2,6 dias a mais de internação hospitalar e o risco de desenvolver uma infecção 2,1 vezes a mais do que pacientes sem mucosite oral (Sonis *et al.*, 2001). Ruescher *et al.*, (1998) relataram que pacientes submetidos ao TCTH autólogo por doenças hematológicas malignas, quando desenvolvem mucosite, permanecem cinco vezes mais tempo internados do que pacientes sem mucosite.

A incidência da MO varia de acordo com o tratamento em que o paciente é submetido. A mucosite oral tem sido relatada em 40% a 79% dos pacientes recebendo quimioterapia (Okuno *et al.*, 1999, Nottage *et al.*, 2003, Ramirez-Amador *et al.*, 2010) e entre 60% a 100% dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço recebendo radioterapia (Cengiz *et al.*, 1999, Makkonen *et al.*, 1994, Trotti *et al.* 2003). Em pacientes submetidos a transplante de medula óssea esta incidência é bem maior, variando entre 76% a 100%, em que os pacientes desenvolvem algum grau de mucosite oral (Mcguire *et al.* 1993; Wardley *et al.*, 2000; Castagna *et al.*, 2001; Spielberger *et al.*, Salvador, 2005; Blazar *et al.*, 2006; Lilleby *et al.*, 2006; Vera-Llonch *et al.* 2007a), e destes, 66 a 76% desenvolvem mucosite severa (Woo *et al.*, 1993; Wardley *et al.*, 2000; Bolwell *et al.*, 2002).

A MO é provavelmente um processo de origem multifatorial, resultado de efeitos citotóxicos da quimio e/ou radioterapia causando danos no endotélio, tecido conjuntivo e tecido epitelial. Caracteriza-se clinicamente por lesões eritematosas e ulcerativas que acometem o vermelhão dos lábios e a mucosa oral. Sua incidência está vinculada ao regime de

condicionamento e se apresentam 75% a 100% dos pacientes submetidos ao transplante de medula óssea (Rubenstein, *et al.*, 2004; Scully, *et al.*, 2006; Basu *et al.*, 2012; Bagnyukova *et al.*, 2010; Dirix *et al.*, 2010).

A mucosite é a consequência de dois mecanismos maiores: a toxicidade direta da terapêutica utilizada sobre a mucosa e a mielossupressão gerada pelo tratamento. Sua patogênese está ligada à renovação celular diminuída induzida pela quimio e radioterapia nas camadas basais do epitélio, que se torna incapaz de alcançar a renovação adequada das células descamadas (Volpato *et al.*, 2007).

Sonis (1998) sugere que a mucosite oral é um processo biológico complexo, que ocorre em quatro fases distintas e independentes, como consequência de uma série de ações mediadas por citocinas. As fases são: fase inflamatória ou vascular, fase epitelial, fase ulcerativa ou bacteriológica e fase curativa. Na fase inflamatória ou vascular são liberadas as citocinas do tecido epitelial (IL-1, IL-6 e TNF- α) que causam o aumento da vascularização local e acúmulo de componentes citotóxicos. Na fase epitelial, a radioterapia e a quimioterapia atuam sobre a divisão celular da camada basal do epitélio bucal, reduzindo a renovação epitelial, causando atrofia e conseqüentemente a ulceração. A fase ulcerativa ou bacteriológica ocorre com a colonização de microorganismos que intensificam as lesões formadas. Durante a fase de cicatrização o epitélio se renova, sem estímulos de drogas citotóxicas.

Em 2009, Sonis *et al.*, descreveram que a mucosite oral envolve cinco fases biológicas: Iniciação, Super-Regulação, Amplificação de Sinal, Ulceração e Cicatrização.

A fase de Iniciação ocorre rapidamente, logo após a radioterapia ou a quimioterapia por danos diretos a molécula de DNA. Essa injúria ocorre simultaneamente com produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que levam a danos celulares, nos tecidos, nos vasos sanguíneos, entre outros tecidos (Sonis *et al.*, 2009).

A Super-Regulação é caracterizada pela ativação dos genes c-jun, c-fos e Erg-1, ativação dos fatores de transcrição como o fator nuclear Kappa beta (NF- κ) e moléculas de adesão vascular. Tudo isso é seguido por uma maior regulação de genes que resulta numa produção em cascata de proteínas e moléculas destrutivas, como as citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6), o Fator de Necrose Tumoral (TNF), Óxido Nitroso (NO), que levam a apoptose da célula e dano ao tecido da mucosa oral (Sonis *et al.*, 2009).

A radiação e quimioterapia também tem por alvo fibroblastos na submucosa durante esta fase, através da ativação da matriz de metaloproteinase 3 (MMP3) pela ciclo-oxigenase-2 (COX-2). MMP3 rompe a membrana basal do epitélio, e ajuda a promoção sinal destrutivo (Sonis *et al.*, 2009).

Em seguida, há uma Amplificação de Sinal, em que citocinas pró-inflamatórias exercem um efeito direto prejudicial sobre as células-alvo da mucosa e desempenham um papel indireto na amplificação lesão da mucosa iniciada por radiação e quimioterapia promovendo um ciclo de feedback positivo que realimenta os mecanismos envolvidos na lesão primária. Além disso, esses os danos às células epiteliais resultam em uma perda da capacidade de renovação do epitélio. Como resultado, o epitélio começa a diminuir e os pacientes começam a sentir os primeiros sintomas da mucosite (Sonis *et al.*, 2009).

Na fase de Ulceração, ocorre entre 10 e 15 dias pós tratamento, é resultante das citotoxicidades nas células primordiais da camada basal se caracterizando por alterações atróficas que culminam com ulceração. A presença de macrófagos vai aumentar o número de citocinas, causando mais dano ao tecido lesado. Nesta fase serão observados sinais de mucosite, como a presença de ulcerações profundas e ocasionalmente pseudomembranas. O rompimento da integridade da mucosa pode facilitar a colonização bacteriana, que vai ativar os macrófagos teciduais aumentando as citocinas pró-inflamatórias, as quais vão amplificar e acelerar danos

teciduais. Em pacientes neutropênicos, essa fase pode levar a bacteremia e sepsis pela invasão dos microorganismos através dos vasos pela submucosa (Sonis *et al.*, 2009).

A fase de cicatrização é a fase menos compreendida, as células epiteliais que rodeiam as úlceras proliferarem na ferida e começam a formar camadas. É um processo biologicamente dinâmico com estímulos provenientes da matriz extracelular submucosa promovendo a cicatrização do epitélio, sendo iniciada com um sinal da matriz extracelular, o que leva a uma renovação do epitélio, diferenciação e reestabelecimento da microflora, podendo ocorrer simultaneamente à recuperação da medula óssea, com o aumento da leucócitos (Sonis *et al.*, 2009).

O efeito citotóxico direto da quimioterapia geralmente inicia 4 ou 5 dias após a terapia, com a vermelhidão da mucosa, processo chamado eritema (Scully *et al.*, 2006). Ulcerações iniciam entre 7 e 11 dias após a quimioterapia. Na ausência de infecção, a MO geralmente cicatriza entre 14 e 17 dias (Woo *et al.*, 1993; Scully *et al.*, 2006; Ramirez-Amador *et al.*, 2010).

Mucosite induzida por quimioterapia comumente acomete mucosa não-queratinizada, incluindo palato mole, mucosa jugal, assoalho bucal e língua (Scully *et al.*, 2003). Áreas com maior queratinização tem uma maior resistência a trauma (Schubert *et al.*, 1993), e, portanto, quando há desenvolvimento de mucosite na gengiva, eritema e úlceras geralmente aparecem mais tarde. Em um estudo longitudinal com 59 pacientes submetidos ao TCTH, Woo e colaboradores (1993) encontraram que 96% de lesões orais estavam localizadas em áreas não-queratinizadas, como mucosa jugal, assoalho bucal e porção ventro-lateral de língua foram os sítios mais comumente envolvidos. Ulceração do palato duro é raro em pacientes submetidos a quimioterapia, e em transplante de medula óssea pode ser atribuído a infecção do Herpes Simples (HSV) ou doença do enxerto versus hospedeiro, efeito indesejado do processo do transplante (Scully *et al.*, 2006; Glenny *et al.*, 2009).

As infecções virais diferem clinicamente das lesões de mucosite oral por serem localizadas na mucosa queratinizada do palato duro, gengiva, dorso de língua e seu aparecimento geralmente coincide com febre. A doença do enxerto versus hospedeiro é limitada aos pacientes submetidos ao transplante de células hematopoiéticas e desenvolve-se após a recuperação hematológica (cerca de 21 dias após o transplante), consistindo de lesões orais normalmente liquenóides e, muito frequentemente, associado à xerostomia (Woo *et al.*, 1993).

Para graduar e classificar a severidade e significância clínica da mucosite, algumas classificações têm sido propostas. Dentre essas, a classificação proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS) é a mais utilizada, a qual gradua a mucosite em 5 níveis distintos, 0 – ausência de mucosite; I – eritema, o paciente queixa-se de ardência; II – presença de eritema e úlceras, mas o paciente é hábil para se alimentar via oral; III - confluência de úlceras, o paciente faz uso apenas de dieta líquida; IV – confluência de úlceras, alimentação via oral não é possível (OMS, 2000).

Atualmente, o tratamento da mucosite apresenta características de suporte e palição, aliviando sintomas e evitando outras complicações, como desidratação, caquexia e infecções. São preconizadas dietas não irritativas e produtos de higiene oral, antissépticos bucais, anestésicos tópicos, analgésicos opióides e utilização de laser de baixa potência. No entanto, não há consenso sobre o tratamento mais indicado (Casado *et al.*, 2003).

Apesar de estudada durante muitos anos, nenhuma estratégia ou abordagem provou-se efetiva no tratamento da mucosite bucal. A literatura cita como novas alternativas para mucosite a utilização de fatores de crescimento, embora haja poucos estudos avaliando sua efetividade clínica (Lee *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2009).

2.7 LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE

Os lasers de baixa intensidade foram introduzidos como modalidade terapêutica na década de 60, devido às baixas densidades de energia utilizadas e comprimentos de onda capazes de penetrar no tecido. Desde então, encontram-se relatados na literatura vários experimentos com animais (Mester *et al.*, 1971; Kovács *et al.*, 1974; Surinchak *et al.*, 1983; Saperia *et al.*, 1986; Lee *et al.*, 1993; Utsunomiya *et al.*, 1998; Walker *et al.*, 2000), bem como ensaios em humanos (Simunovic *et al.*, 1998; Pinheiro *et al.*, 1998; Schindl *et al.*, 1999, Schaffer *et al.*, 2000).

São descritos vários estudos sobre os efeitos destes tipos de lasers em funções celulares, buscando entender os mecanismos de interação da luz com as células. Entretanto, a relação exposição resposta ainda não foi esclarecida e os mecanismos básicos responsáveis pelos efeitos observados no intervalo de doses terapêuticas não são completamente entendidos (Karu *et al.*, 1982; Friedman *et al.*, 1991; Karu *et al.*, 1991; Lubart *et al.*, 1992; Karu *et al.*, 1995; Yamamoto *et al.*, 1996; Sroka *et al.*, 1999).

2.8 HISTÓRICO DO LASER

No início da década de cinquenta, foi desenvolvido por vários cientistas, o MASER (*Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) - Amplificação de Micro-ondas por Emissão Estimulada de Radiação), um amplificador de micro-ondas com ruído extremamente baixo. Entre os mais destacados estavam Charles Hard Townes da Universidade de Columbia, EUA; Alexandr Mikhailovich Prokhorov e Nikolai Gennadievich Basov, da URSS. Em 1964, os três receberam o Prêmio Nobel de Física por seu trabalho (Hecht & Zajac, 1986).

Em 1958, Schawlow e Townes, propuseram estender os princípios do MASER para as regiões do infravermelho e visível do espectro eletromagnético (Schawlow & Townes, 1958). Em julho de 1960, Theodore H. Maiman, do *Hughes Research Laboratories*, EUA, anunciou a primeira operação com êxito de um "maser óptico", com emissão estimulada na faixa visível do espectro, $\lambda = 694\text{nm}$, a partir da excitação de um cristal de rubi através de uma lâmpada flash fotográfica. Surgiu então o LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*), amplificação da luz por emissão estimulada de radiação, certamente um dos grandes acontecimentos na história da ciência (Maiman et al., 1960).

Em 1961, Javan, Bennett Jr. e Herriot publicaram a primeira operação com êxito de um laser gasoso de He-Ne, em regime de emissão contínua, com $\lambda = 1152,3\text{nm}$. O laser de hélio-neônio moderno é bastante utilizado, cujo meio ativo é composto por gás nobre. A luz laser é obtida através da transição do átomo de neônio, enquanto que o hélio é adicionado à mistura gasosa para propiciar o processo de bombeamento do meio ativo. O laser de He-Ne emite fótons de vários comprimentos de onda, sendo o mais intenso em $\lambda = 632,8\text{nm}$ (vermelho), emissão contínua (Javan et al., 1961).

2.9 PROPRIEDADES DA LUZ LASER

A luz laser se diferencia da luz comum por suas propriedades de monocromaticidade (fótons com mesmo comprimento de onda), coerência (todos os feixes localizam na mesma fase) e colimação/direcionalidade (propagação em uma mesma direção). Alguns sistemas de laser ainda são polarizados (Almeida-Lopes, 1999).

A radiação laser pode ser refletida, transmitida, absorvida ou espalhada pelo tecido. A monocromaticidade do laser determina a absorção seletiva por parte dos cromóforos, com

resposta afim a um ou a vários comprimentos de onda, fenômeno conhecido como ressonância à uma determinada frequência [[]].

O comprimento de onda é fator determinante na interação laser-tecido. Corresponde à distância percorrida pela onda em uma oscilação completa, sendo medida em nanômetros (nm) e a frequência de suas oscilações em Hertz (Hz). O comprimento de onda pode variar desde o infravermelho distante até os raios cósmicos e segundo seu meio ativo, onde é gerada a radiação. É o meio ativo, em geral, que dá o nome ao laser determinando sua pureza espectral e seu comprimento de onda, conferindo características diferentes de emissão e de possível ação biológica, sendo os principais de Hélio-Neônio (He-Ne), Arseneto-Gálio-Alumínio (GaAIAs) e Arseneto-Gálio (GaAs) [[]].

2.10 MECANISMOS DE AÇÃO

Atualmente, a laserterapia é considerada um tipo de procedimento terapêutico seguro, com indicações e contraindicações bem determinadas. As razões para esse fato são: experiências clínicas positivas, investigações científicas das alterações teciduais que ela promove, e acima de tudo o melhor entendimento do seu mecanismo de ação (Pesevska *et al.*, 2006).

A terapia com lasers emitindo baixas intensidades é responsável pelos efeitos não-térmicos (efeitos fotofísicos, fotoquímicos e fotobiológicos), constituindo-se num tratamento a laser no qual a intensidade utilizada é baixa o bastante para que a temperatura do tecido tratado não ultrapasse 37,5°C (Almeida-Lopes, 1999).

O mecanismo de ação do laser e a cicatrização da mucosa oral têm sido descritos como uma ativação da produção de energia pelas mitocôndrias. Essa produção de energia ocorre com a ativação dos citocromos, nas mitocôndrias das células da mucosa oral, através de transmissão

de elétrons (Karu et al., 1998). Também tem sido demonstrado que o laser promove rápida regeneração dos miofibroblastos originados dos fibroblastos e os fatores de crescimento desses fibroblastos mantêm o reparo e uma proteção citotóxica (Porreau-Schneider *et al.*, 1990).

Os efeitos do laser de baixa potência nos eventos celulares, que ocorrem durante a cicatrização de feridas, são importantes no entendimento dos mecanismos que agem nesse processo. Estes estimulam a atividade celular, conduzindo à liberação de fatores de crescimento por macrófagos (Young 1989), proliferação de queratinócitos (Haas et al., 1990) e angiogênese (Schindl et al., 1999). Esses efeitos podem levar a uma aceleração no processo de cicatrização de feridas, que é devida em parte, à redução da inflamação aguda, resultando em uma entrada mais rápida no estágio proliferativo de reparo, quando o tecido de granulação é produzido (Dyson, 2000).

Os efeitos biológicos da laserterapia tem sido atribuído a vários fatores como: comprimento de onda vermelho e infravermelho, fluência, bem como da fase de crescimento celular na qual as células são irradiadas (Nascimento, 2004). Além dos efeitos sobre a cicatrização de feridas, LLLT resulta em um efeito analgésico, reduz edema, previne infecção e aumenta a formação de novos capilares através da liberação de fatores de crescimento (Kovacs, 1974; Allendorf *et al.*, 1997; Karu 2000).

2.11 INTERAÇÃO LASER/TECIDO

Os tecidos biológicos são meios absorvedores opticamente inomogêneos, com índices de refração mais alto que o do ar. Assim, na interface ar-biotecido, uma parte da radiação é refletida (devido à lei de Fresnel), e a outra parte penetra no tecido. Enquanto se propaga no tecido, o feixe laser diverge e é atenuado devido a múltiplos espalhamentos e à absorção (Tuchin *et al.*, 1995).

A profundidade de penetração da energia do *laser* nos tecidos depende da absorção e da dispersão, sendo que diferentes comprimentos de onda apresentam diferentes coeficientes de absorção para um mesmo tecido (Nara *et al.*, 1992).

Cada comprimento de onda, portanto, terá um tipo diferente de interação segundo o tecido alvo. A ação dos diferentes comprimentos de onda no metabolismo celular vem sendo estudada por diferentes autores. Já se sabe que a ação desses lasers varia segundo a posição que ocupam no espectro de radiações eletromagnéticas, e que a ação sobre as células é diferente para os comprimentos de onda infravermelhos e para os visíveis. Porém, a resposta clínica não varia intensamente (Karu, 1988).

O efeito da laserterapia é particularmente evidente se a célula em questão tem a sua função debilitada (Karu, 1989). Trabalhos encontrados na literatura mostram que a terapia com luz laser de baixa intensidade (LILT - *Low Intensity Laser Therapy*) tem efeitos mais pronunciados sobre órgãos ou tecidos enfraquecidos, tais como em pacientes que sofrem algum tipo de desordem funcional ou de injúria ao tecido (Tuner, 1998).

Embora ainda não tenha sido possível determinar o melhor comprimento de onda para cada indicação, a literatura relata que o laser vermelho é a melhor opção para úlceras, herpes, regeneração nervosa e cicatrização de feridas abertas (Zyryanov *et al.*, 1996) e o laser infravermelho pode ser uma boa alternativa de tratamento de analgesia, tendinites, edemas, e há bons resultados também no tratamento de úlcera crônica (Tuner *et al.*, 1998).

2.12 CICATRIZAÇÃO

Nas últimas décadas houve grandes avanços no conhecimento dos eventos e fenômenos envolvidos nas diversas fases da cicatrização e, em paralelo, vários estudos têm sido realizados

no sentido de identificar substâncias capazes de favorecer o processo de reparo (Mendonça *et al.*, 2009).

A cicatrização de feridas envolve uma série de eventos celulares e moleculares perfeitamente coordenados que devem resultar na reconstituição e repavimentação do tecido (Ortonne *et al.*, 1994). Para que a restauração tissular ocorra é necessário que haja perfeita harmonia entre os processos bioquímicos e fisiológicos envolvidos no reparo. A cicatrização é desencadeada com a perda tecidual, e é quando o fisiologismo volta-se completamente para a reparação do evento danoso ao organismo.

2.13 LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE X CICATRIZAÇÃO

A cicatrização de feridas pode ser dividida em fases: inflamação, proliferação ou regeneração e remodelação. Inúmeros fatores afetam toda a cura de feridas processo, incluindo células de tecidos individuais (como a plaquetas, leucócitos polimorfonucleares, macrófagos fibroblastos, células endoteliais, pericitos ou indiferenciadas. As células mesenquimais, células epiteliais e do sangue); circulação e oxigenação, infecção, presença de corpos estranhos, características do paciente, tais como idade e hábitos, como fumo e álcool (Gottrup *et al.*, 2007).

O objetivo do estudo de Young e colaboradores em 1989 foi investigar se a luz poderia estimular a liberação de mediadores produzidos por macrófagos. As células foram expostas em cultura aos $\lambda = 660\text{nm}$, 820nm , 870nm e 880nm ; $DP = 120\text{mW/cm}^2$ e $D = 2,4\text{J/cm}^2$; emissão pulsada. A fonte de $\lambda = 820\text{nm}$ era coerente e polarizada e as outras eram fontes de luz não-coerentes. Os resultados mostraram que $\lambda = 660\text{nm}$, 820nm e 870nm estimularam macrófagos a liberar fatores que aumentaram a proliferação de fibroblastos em relação ao nível controle, ao passo que $\lambda = 880\text{nm}$ nem inibiu a liberação desses mediadores, nem estimulou a liberação de alguns fatores inibitórios para a proliferação de fibroblastos. Esses resultados sugerem que luz

em certos comprimentos de onda pode ser uma modalidade terapêutica útil por fornecer um meio para estimular ou inibir a proliferação de fibroblastos onde necessários. Em certos comprimentos de onda, a coerência não se mostrou essencial.

Nara *et al.* (1992) estudaram os efeitos da irradiação com três tipos de lasers de baixa densidade de potência: um laser de He-Ne ($\lambda = 632,8\text{nm}$, $P = 5\text{mW}$), e dois lasers de semicondutor ($\lambda = 790\text{nm}$ e 830nm , $P = 34\text{mW}$ e 14mW , respectivamente), na proliferação de fibroblastos humanos e os resultados foram comparados *in vitro*. Os fibroblastos da polpa humana foram obtidos de subculturas e estas foram incubadas por 48 horas em meios suplementados por soro antes da irradiação laser. Cada laser foi usado no modo de emissão contínua e a irradiação foi realizada quatro vezes, no intervalo de dose total $0,05\text{J/cm}^2$ a $2,0\text{J/cm}^2$. Depois da incubação, as células foram fixadas e coradas em lâminas e o número de núcleos foi contado. O laser de He-Ne mostrou a capacidade de acelerar a proliferação de fibroblastos da polpa em uma baixa dose de irradiação ($0,1\text{J/cm}^2$). Por outro lado, os lasers de semicondutor falharam em produzir qualquer efeito estimulativo sobre estes fibroblastos.

Loevschall & Arenholt-Bindslev (1994) estudaram os efeitos da LILT na proliferação de fibroblastos bucais humanos. Eles desenvolveram um arranjo experimental utilizando um laser de GaAlAs de emissão coerente e polarizada ($\lambda = 812\text{nm}$ e $4,5 \pm 0,5\text{mW/cm}^2$) com auxílio de lentes, de modo a garantir uma exposição uniforme de todas as células em cultura. As culturas foram divididas em oito grupos (um grupo sendo o controle). A irradiação foi realizada por 0s, 1s, 3s, 10s, 32s, 100s, 316s e 1000s, correspondendo, respectivamente, a densidades de energia de 0; 4,5; 13,5; 45; 144; 450; 1422 e 4500mJ/cm^2 . Os resultados que eles obtiveram no aumento da incorporação de ^3H -timidina em fibroblastos orais humanos, após à exposição, sugeriram que a LILT pode induzir um aumento na síntese do DNA, que é dependente da dose e do tempo de exposição. A proliferação celular aumentou gradativamente até $D = 450\text{mJ/cm}^2$, onde atingiu um máximo e depois decaiu lentamente.

Os efeitos do laser de He-Ne em osteogênese foram investigados por Freitas e colaboradores, na fratura da superfície cortical de tíbia de ratos. O tratamento com laser iniciou-se 24 horas após o procedimento cirúrgico e tíbias contralaterais serviram como controle. Os animais foram separados em três grupos, doses de 3,15J/cm²; 31,5J/cm² e 94,7J/cm², e após aplicação diária, eles foram sacrificados no dia 8 ou 15 pós-operatório. Microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura revelaram que o tratamento da lesão com doses de 31,5J/cm² e 94,7J/cm² resultaram na formação de trabécula óssea mais espessa, que indicou uma maior síntese de fibras colágenas e, portanto, que a atividade osteoblástica foi aumentada pela radiação laser, comparada ao grupo controle. Os efeitos da dose de 94,7J/cm² foram mais pronunciados. Tratamento com dose de 3,15J/cm² não apresentou diferenças significantes em relação ao controle (Freitas *et al.*, 2000).

2.14 LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE X MUCOSITE ORAL

A maioria dos estudos sobre terapia com o laser de baixa intensidade em pacientes com mucosite quimio induzida tem tido como objetivo a prevenção. Há uma ampla evidência, contudo, que o laser pode diminuir a dor e estabilizar as lesões da mucosa oral, além de diminuir a progressão das lesões e acelerar sua cicatrização. Porém, não há controle sobre o real potencial terapêutico do laser na mucosite oral. Esse efeito do laser tem sido avaliado recentemente e em poucos estudos (Arun Maiya *et al.*, 2006).

A laserterapia é indicada na prevenção e tratamento da mucosite oral podendo ser usada isoladamente ou associada a tratamento medicamentoso. Proporciona alívio da dor, maior conforto ao paciente, controle da inflamação, manutenção da integridade da mucosa e melhor reparação tecidual (Kelner *et al.*, 2007; Migliorati *et al.*, 2013).

Barasch *et al.* (1995), realizaram a prevenção da mucosite oral em 20 pacientes utilizando laser hélio-neônio por cinco dias consecutivos na mucosa oral, um dia após a quimioterapia (D+1), irradiando em um lado (esquerdo ou direito), sendo o lado oposto, avaliado como controle. A mucosite oral e os relatos de dor foram reduzidos no lado tratado, mas ocorreram lesões em todos os pacientes bilateralmente, com progressivo aumento da ulceração a partir de D+6 e cicatrização por volta de D+21.

Cowen *et al.* (1997), fizeram um estudo duplo-cego randomizado com laser hélio-neônio para prevenir/reduzir a mucosite oral em 30 pacientes submetidos ao transplante autólogo de medula óssea. Foi observado uma redução na ocorrência e duração de mucosite de grau III em pacientes tratados com laser. Sobretudo, a aplicação de laser reduziu a dor oral e na avaliação dos pacientes foi confirmada a diminuição de uso de morfina.

Arun Maya *et al.* (2006), em estudo prospectivo randomizado analisaram os efeitos clínicos do laser de baixa potência na prevenção e redução do grau de mucosite oral em 50 pacientes com carcinoma em cavidade oral submetidos à radioterapia. No grupo laser, 25 pacientes foram tratados com laser (He-Ne), comprimento de onda 632,8 nm (10mW) durante 3 minutos por dia, 5 dias por semana, desde o primeiro até o último dia de radioterapia. O grupo controle foi tratado com analgésicos orais e soluções anestésicas de aplicação local. Dezoito pacientes do grupo laser apresentaram mucosite grau I e 7 mucosite grau II, enquanto no grupo controle 14 pacientes apresentaram mucosite grau III e 11 mucosite grau IV ($p < 0.001$). A nota de dor no grupo laser também mostrou diminuição significativa (2.6 ± 0.64) quando comparada com o grupo controle (6.68 ± 1.44) ($p < 0.001$).

Antunes *et al.*, (2007) investigaram os efeitos clínicos do laser de baixa potência na prevenção e redução do grau de mucosite oral em pacientes submetidos ao transplante de medula óssea. Foram randomizados 38 pacientes e o grupo tratado com laser, quando comparado com o grupo controle apresentou graus menos severos de mucosite oral.

Jaguar *et al.*, (2007) avaliaram 49 pacientes submetidos ao transplante de medula óssea (TCTH), e em 24 foi realizado laserterapia profilática iniciando no condicionamento prosseguindo até o dia 2 posteriormente ao transplante. Os pacientes que não receberam laserterapia apresentaram mucosite em média 4,36 dias após o TCTH, enquanto que o grupo com laser apresentou após 6,12 dias ($p = 0.01$). Em relação ao tempo de dor apresentado pelos pacientes, em média o grupo que não recebeu o laser referiu sintomatologia dolorosa em boca por um período médio de 5,64 dias enquanto que o grupo com laser 2,45 dias ($p = 0.04$), consequentemente diminuindo o consumo de morfina ($p = 0.07$).

Arora *et al.*, (2008) conduziram um estudo prospectivo randomizado para investigar a utilização do laser de baixa potência (hélio-neônio) na prevenção e tratamento da mucosite oral induzida por radioterapia em pacientes com câncer de boca. Um total de 24 pacientes foi dividido em Grupo Laser (He-Ne) e Grupo Controle. Os pacientes do grupo laser durante 26 dias irradiando 6 áreas anatômicas em cavidade oral (palato, assoalho de boca, lábios, ventre e dorso de língua e mucosa bucal), excluindo área tumoral, antes de cada sessão de radioterapia. Houve diferença significativa entre os dois grupos, tanto para o grau de mucosite oral como na avaliação da dor, comprovando que a laserterapia aplicada de forma profilática durante a radioterapia pode reduzir a severidade da mucosite oral e a severidade da dor.

Carvalho *et al.*, (2011), utilizaram a laserterapia para prevenção e tratamento da mucosite radioinduzida em pacientes com câncer de cabeça e pescoço, que foram randomizados em dois grupos: Grupo 1 (660nm/15mW/3.8J/cm (2) / spot size 4 milímetros (2)) ou Grupo 2 (660nm/5mW/1.3J/cm (2) / spot size 4 mm (2)), começando no primeiro dia de radioterapia. Os pacientes do grupo 1 tiveram um tempo médio de 13,5 dias (intervalo de 6-26 dias) para apresentar mucosite grau II, enquanto os pacientes do grupo 2 tiveram um tempo médio de 9,8 dias (intervalo de 4-14 dias). Além disso, o grupo 2, também apresentou um grau mais elevado

do que a mucosite Grupo 1. Os pacientes do Grupo 1 relataram níveis de dor mais baixos ($p = 0,004$), sendo a laserterapia eficaz no controle da intensidade da mucosite e da dor.

Cunha *et al.*, (2012) avaliaram a eficácia do tratamento da mucosite oral induzida por cinco- fluoracil, comparando a influência da irradiação laser de baixa potência (nos comprimentos de onda 660nm e associação de 660nm e 780nm) somada aos cuidados de higiene bucal na redução da severidade da mucosite oral induzida pelo uso de antineoplásico cinco-fluoracil (5FU) e na alteração de padrão alimentar durante o tratamento. Os pacientes foram alocados em três grupos de forma sequencial. O grupo experimental vermelho recebeu tratamento com uso de laser de baixa potência, no comprimento de onda ($\lambda = 660\text{nm}$), $7,5\text{J}/\text{cm}^2$, 30 mW. O grupo laser vermelho + infravermelho recebeu irradiação laser de baixa potência, associando sequencialmente dois comprimentos de onda ($\lambda = 660\text{ nm}$ e $\lambda = 780\text{ nm}$), $3,8\text{J}/\text{cm}^2$ e 15mW para ambas irradiações. O grupo controle recebeu tratamento para mucosite oral, com uso de clorexidina 0,12%, sem álcool. Os resultados apresentados em relação à redução da severidade das lesões nos grupos lasers foram considerados superiores em relação ao grupo controle, não havendo diferenças estatísticas entre os diferentes comprimentos de onda utilizados. Houve uma mudança no padrão alimentar estatisticamente significativa apenas para o grupo vermelho + infravermelho.

Gautam e colaboradores (2013), utilizaram a laserterapia (vermelho) em um estudo duplo-cego randomizado em pacientes com câncer oral submetidos a quimiorradioterapia. Os parâmetros utilizados foram: $\lambda=632.8\text{ nm}$, $P=24\text{ mW}$, $ED=3.5\text{ J}/\text{cm}^2$ e observou que houve uma redução da mucosite severa, dor, uso de analgésicos opioides e nutrição parental, nos pacientes que receberam laser em relação ao grupo controle.

2.15 FATORES DE CRESCIMENTO

Os fatores de crescimento são proteínas que se unem a seus receptores, resultando na ativação, proliferação e/ou diferenciação celular. A produção de fatores de crescimento é um processo biológico que pode iniciado imediatamente após a lesão, com o objetivo de estimular as células envolvidas no processo de reparação de proliferar. Eles são encontrados em vários tecidos em fase de cicatrização e renovação celular. São mediadores biológicos naturais que atuam sobre os processos de reparo e regeneração. Muitos fatores de crescimento são versáteis, estimulando a divisão celular em diferentes tipos de células, enquanto outros são específicos para um tipo celular (Wahl *et al.*,1983).

Desempenham um papel importante no recrutamento e formação de novos fibroblastos, formação de colágeno novo e outros componentes da matriz, e formação de novos vasos sanguíneos. A liberação de fatores de crescimento de ambas as células lesadas e células inflamatórias é, portanto, uma parte crítica do processo de reparação (Terranova *et al.*, 1987).

A ligação aos receptores presentes na superfície da célula alvo emite um sinal que atravessa a membrana citoplasmática e efetua um comando celular ou nuclear. Esses processos, muitas vezes, são críticos ao funcionamento da célula, tais como angiogênese, mitogênese e transcrição genética (Silva, 2008).

Essas proteínas são moléculas que induzem uma extensa cadeia de efeitos, incluindo migração de células e síntese de proteínas (Woo *et al.*,1999). Os fatores de crescimento mais importantes que atuam estimulando a regeneração tecidual são o fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento de fibroblasto (FGF), fatores de transformação de crescimento alfa e beta (TGF) e as denominadas citocinas fibrinogênicas, a interleucina 1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF-alfa) (Brasileiro, 1998).

Esses fatores agem na membrana celular, ativando a tirosinaquinase, que entra em contato com o DNA, estimulando a divisão e proliferação celular. Como benefícios ativam macrófagos e fibroblastos acelerando a granulação tecidual e estimulando a divisão e proliferação celular (Mandelbaum *et al.*, 2003).

O papel destes peptídeos endógenos na cicatrização já foi bastante esclarecido por diversos estudos (Clark *et al.*, 1996; Balbino *et al.*, 2005; Vermolena *et al.*, 2006). O uso tópico de Fatores de Crescimento análogos aos endógenos tem se revelado recurso bastante promissor na abordagem terapêutica do tratamento de feridas (Braund *et al.* 2007).

Hoje, existem pesquisas em andamento que visam testar a eficácia e segurança da aplicação terapêutica dos Fatores de Crescimento exógenos em feridas de difícil cicatrização, dos quais os mais investigados são: o Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), o Fator Transformador Beta (TGF β), Fator de Crescimento Fibroblástico (FGF), Fator de Crescimento Semelhante à Insulina (IGF), o Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) e Fator de Crescimento Vascular (VEGF).

2.16 FATOR DE CRESCIMENTO EPIDERMAL (EGF)

O EGF é uma proteína que é produzido por diferentes células, mitogênico para várias células epiteliais e fibroblastos *in vivo*. É secretado pela glândula submandibular, glândula lacrimal, rim, tireóide e pâncreas e produz uma variedade de respostas biológicas – a maioria envolvendo regulação da replicação, movimento e sobrevivência celular (Imanishi *et al.*, 2000; Tuyet *et al.*, 2009).

Pertence a uma família de ligantes relacionados (que inclui o fator transformador de crescimento alfa, TGF- α), que compartilha uma sequência de aminoácidos homóloga e com alta afinidade pelo mesmo receptor, o EGF-R. Estimula a divisão celular ligando-se a receptores

específicos com atividade de tirosina-quinase na membrana celular. O receptor EGF é o c-erb-beta-1 (Cotran, 2000).

Existe como um componente da lágrima humana, acelera a abertura da pálpebra e a erupção dos dentes incisivos em ratos recém-nascido e, por outro lado, estimula a proliferação epiteliais de córnea, células endoteliais e queratinócitos (Gospodarowics *et al.*, 1977; Gospodarowics & Greenburg, 1979; Hongo *et al.*, 1992).

O efeito terapêutico do EGF em mucosas com danos, incluindo no trato gastrointestinal, tem sido investigado. Este fator de crescimento tem sido utilizado como agente protetor e terapêutico contra úlceras gástricas e mucosite intestinal. Além do mais, o EGF recombinante humano (rhEGF) tem demonstrado bom desempenho na cicatrização de úlceras de pés diabéticos (Hong *et al.* 2006).

2.17 FATOR DE CRESCIMENTO FIBROBLÁSTICO (FGF)

O fator de crescimento de fibroblasto (FGF) foi inicialmente descrito como mitógeno dos fibroblastos extraídos do cérebro e hipófise bovinos. O FGF básico está presente nos extratos de vários órgãos e é produzido por macrófagos ativados, enquanto o FGF ácido fica restrito ao tecido neural. Possui funções como formação de novos vasos sanguíneos, reparo de feridas, desenvolvimento da musculatura esquelética e na maturação pulmonar, hematopoese, desenvolvimento de linhagens específicas de células sanguíneas e desenvolvimento do estroma da medula óssea (Cotran, 2000).

O fator de crescimento de fibroblastos básico (bFGF) tem sido detectado em macrófagos, que é liberado a partir de células danificadas, que poderia desempenhar um papel crucial nos processos de cicatrização de feridas. bFGF estimula a proliferação de todos os tipos celulares envolvidos no processo de cicatrização de feridas, tanto *in vitro* como *in vivo*. Estes

incluem fibroblastos, células endoteliais dos capilares, músculos lisos e outros tipos de células tais como condrócitos e mioblastos, que são envolvidas no processo de cicatrização de tecidos especializados (Aggarwal *et al.*, 2003; Baired & Walicke, 1989; Gospodarowicz *et al.*, 1990).

2.18 FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR BETA (TFG B)

O TGF-alfa é produzido por diferentes tipos celulares incluindo plaquetas, células do endotélio, células T e macrófagos, atuando como fator inibidor a estimulador do crescimento dependendo da concentração. O TGF-beta é um inibidor do crescimento para maioria dos tipos celulares epiteliais e os efeitos sobre os fibroblastos e células musculares lisas dependem de sua concentração. Em baixa concentração induz sínteses de secreção de PDGF agindo como mitogênico indireto, enquanto em elevadas concentrações inibe o crescimento, devido à capacidade de inibir a expressão de receptores da PDGF. O TGF-beta também estimula a quimiotaxia de fibroblastos e a produção de fibronectina e colágeno, ao mesmo tempo em que inibe sua degradação ao diminuir as proteases e aumentar os inibidores de protease, favorecendo a fibrinogênese (Woo *et al.*, 1999).

O fator Transformador Beta é uma citocina multifuncional secretada pelas plaquetas, linfócitos T, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos e outros tecidos. Possui uma ação central e apresenta efeitos anti-inflamatórios e atividade proliferativa durante a reparação tecidual. Os seus efeitos incluem a quimiotaxia de leucócitos, fibroblastos e células musculares lisas. Além disso influencia tanto a formação e remodelação da matriz extracelular; estimula a migração dos queratinócitos, angiogênese e diferenciação de fibroblastos; inibe a proliferação de queratinócitos; regula a expressão da integrina e outras citoquinas, e também possuem uma propriedade de auto-indução (Wang *et al.*, 2004; Wan *et al.*, 2007; Sousa, 2011).

Sonis et al., (1994) utilizaram o fator de crescimento transformador β tópico para tratamento na mucosite quimioinduzida e foi observado uma redução na incidência, severidade e duração da mucosite oral.

2.19 FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA (IGF)

Fator de Crescimento Insulina-like (IGF) se difere dos outros fatores de crescimento por possuir efeito endócrino, similar aos da pró-insulina. É quimiotático para fibroblastos e a sua ligação a um receptor ligado à membrana estimula o receptor tirosina-quinase, assim, gerando um sinal que resulta em uma resposta celular. Pode ser dividido em IGF-I e IGF-II. O IGF-II é mais abundante durante o desenvolvimento fetal, porém começa a diminuir após o nascimento, enquanto o IGF-I é parcialmente regulado pelos hormônios de crescimento e estimula a cicatrização de feridas através da formação de colágeno (Yarden & Ullrich, 1988; Humbel *et al.*, 1990; Woo *et al.*, 1999).

Desde a descoberta de sua importância fisiológica na regulação da resposta celular à injúria tecidual, os Fatores de Crescimento foram alvo de diversos estudos clínicos ao longo de pelo menos uma década envolvendo sua aplicação tópica principalmente, no que diz respeito às úlceras (Fu et al., 2004; Braund *et al.*, 2007).

2.20 USO TÓPICO DE FATORES DE CRESCIMENTO

A aplicação tópica de fatores de crescimento sempre foi um recurso bastante atrativo e estudado pelos cientistas. Por serem mediadores químicos que promovem a comunicação intercelular estão relacionados ao processo de cicatrização. Estes fatores têm efeitos profundos sobre a proliferação celular, migração e síntese/degradação da MEC. Considerando-se estas

funções cruciais ao processo de reparo, a aplicação tópica de fatores de crescimento ativos diretamente sobre a superfície da ferida com o objetivo de estimular e acelerar a cicatrização tem se mostrado uma alternativa terapêutica promissora (Bennett, 2003).

O fator estimulador de colônia-granulócito-macrófago (GM-CSF), tanto na forma de bochechos bucais (Ibrahim *et al.*, 1997), como por via subcutânea, tem apresentado resultados benéficos em vários estudos clínicos, reduzindo a severidade e duração da mucosite oral relacionada ao uso de vários agentes quimioterápicos (Karthaus *et al.*, 1998), constituindo um importante agente terapêutico, juntamente com o fator transformador de crescimento beta (TGF- β 3) (Wymenga *et al.*, 1999).

Fujisawa *et al.*, 2003 avaliaram os efeitos da aplicação tópica do fator de crescimento epidérmico (EGF) e fator de crescimento de fibroblastos básico (bFGF), na cicatrização de úlceras na gengiva coelho. Os autores concluíram que o EGF e bFGF promoveu a proliferação dos fibroblastos, e EGF também promoveu a proliferação dos queratinócitos isolados a partir do tecido gengival de coelhos *in vitro*.

Em um ensaio clínico, fase 1 conduzido por Girdler *et al.* 1995, verificaram o uso de bochechos de rhEGF em mucosite oral quimio-induzida, retardou o início e reduziu a intensidade da mucosite oral.

Hong *et al.*, (2009) utilizaram um spray tópico de altas concentrações de EGF diretamente na mucosite radio-induzida e obtiveram um resultado efetivo.

2.21 LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE X FATORES DE CRESCIMENTO

O efeito do laser de baixa intensidade sob os fatores de crescimento e a cicatrização de feridas tem sido relatado em diversos estudos. Conforme descrito por Storgard Jenson, os

fatores de crescimento são polipeptídeos envolvidos na quimiotaxia celular, diferenciação, proliferação e da síntese da matriz extracelular.

Estudos anteriores têm demonstrado que a laserterapia no comprimento de onda vermelho acelera tanto a reação inflamatória e o processo de cicatrização por causa dos efeitos da luz sobre a regulação gênica de citocinas inflamatórias, interleucina, e fatores de crescimento. (Gao *et al.*, 2009 Kipshidze *et al.*, 2001). Outros estudos também demonstraram que o laser vermelho estimula a secreção de TGF- β em modelo de ratos (Safavi *et al.*, 2008) e sobre as células cardíacas *in vitro*. (Khanna *et al.*, 1999). A laserterapia também estimulou a secreção de TGF- β 1 em linha de células de melanoma *in vitro* (Hu *et al.*, 2007) sobre um modelo de ratos, (Leung *et al.*, 2002) e dentes humanos extraídos em um modelo cicatrização (Arany *et al.*, 2007). Outro estudo mostrou que a expressão de TGF- β 2 foi aumentada em osteoblastos humanos *in vitro* (Saracino *et al.*, 2009).

Mvula *et al.*, 2010, constataram que a utilização do laser de baixa intensidade e fator de crescimento epidermal (EGF) em células-tronco derivados de adipócitos humanos *in vitro*, utilizando 5 J/cm² e observaram a proliferação destas células.

Sousa *et al.*, 2011, avaliaram a expressão do fator de transformador Beta em feridas de ratos associadas ou não a luz LED ($\lambda 700 \pm 20$ nm). Foi realizado uma incisão no dorso de 24 ratos pesando 200-250g. Os animais foram randomizados e distribuídos em dois grupos: G0 (controle) e G1 (LED). Cada grupo foi subdividido em 3 subgrupos, de acordo com o dia de sacrifício (2,4 ou 6 dias). A LED fototerapia foi iniciada imediatamente após a cirurgia e aplicada diariamente até o término do experimento. Após a morte do animal, foi retirada uma amostra, que foi imunomarcada com o policlonal anti-TGF- β , e submetida a análise microscópica. A média de expressão foi calculada por cada grupo. A expressão do TGF- β no grupo irradiado pelo LED foi estatisticamente significante menor em relação que os controles no dia 2 ($p = 0.013$). No entanto, não foi observado diferenças estatisticamente significantes nos

períodos posteriores. Concluiu-se que o uso da luz LED, com esses parâmetros específicos, causou uma inibição na expressão do TGF- β em momentos iniciais do processo de cicatrização.

Shimizu *et al.*, (2007) utilizaram laser Ga-Al-As infravermelho (830nm) em osteoblastos da calvária de fetos de ratos e observaram que houve um aumento estatisticamente significativo da expressão do gene e da proteína IGF1. Ihsan (2005) observou que a utilização do Ga-Al-As com comprimento de onda de 904 nm em feridas de coelhos aumentaram os níveis de hormônio do crescimento e fator de crescimento fibroblástico, com consequente aumento da circulação colateral.

Farouk *et al.*, (2009) avaliaram o efeito bioestimulante do laser de He-Ne em combinação com Polygen TM (PG = TGF, EGF, FGF, GF) em células de ovário de hamster chinês (CHO). Utilizaram doses cumulativas de 60 mJ/cm² 600 mJ/cm² foi durante 3 dias consecutivos. Os efeitos combinados do laser He-Ne 180 mJ/cm² com 6 e 12 mg / ml PG foram obtiveram melhores resultados. O laser de He: Ne ou PG pode estimular a proliferação de células CHO e uma maior estimulação pode ser alcançada através do He: Ne laser e PG simultaneamente. Esta combinação pode ser útil como uma nova modalidade de tratamento.

3 OBJETIVOS

Nesta seção serão descritos os objetivos que nortearam este trabalho.

Objetivo Geral

- Avaliar a eficácia tópica dos fatores de crescimento EGF, bFGF, TGF β 3, IGF veiculados em orabase, associado a laserterapia, no tratamento da mucosite oral em pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas.

Objetivos específicos

- Determinar a prevalência de mucosite oral em pacientes submetidos a transplante de medula óssea;
- Avaliar o protocolo da laserterapia na prevenção/duração/intensidade da mucosite oral;
- Avaliar níveis sanguíneos dos Fatores de Crescimento (EGF, bFGF, TGF β 3, IGF) e o desenvolvimento da mucosite;
- Avaliar o uso tópico de fatores de crescimento veiculados em orabase no controle e no grau da mucosite oral.

4 METODOLOGIA

A seguir, é descrita a metodologia utilizada para realização da pesquisa.

4.1 Tipo de estudo

Tratou-se de um ensaio clínico, controlado, duplo cego, randomizado, no qual foi avaliada a eficácia dos fatores de crescimento em orabase associados à laserterapia de baixa potência, em comparação ao placebo orabase associado à laserterapia de baixa potência. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do Hospital de Câncer de Pernambuco nº71/2010 (CAAE: 0050.0.447.447-10).

4.2 Critérios de inclusão

Nos critérios de inclusão se enquadraram pacientes que realizaram o transplante de células-tronco hematopoiéticas e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), após informação sobre todas as etapas do estudo, realização dos exames e administração das drogas.

4.3 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram pacientes que apresentem alterações na mucosa oral de qualquer etiologia.

4.4 Cálculo do tamanho da amostra

Esta amostra foi calculada pelo programa Epi Info (versão 3.5.1) com intervalo de confiança de 95% baseando-se em um universo amostral correspondente a 87 pacientes que se submeteriam ao transplante de medula óssea no estado de Pernambuco em 2012, segundo dados da Estatística Nacional. Estudos mostram que a prevalência da mucosite oral nestes pacientes, varia entre 80-100% (80% - Flores *et al.*, 2010; 99% - Wardley *et al.*, 2000; 100% - Benzinelli *et al.*, 2010), sendo a média destas prevalências $P=93\%$, que resultou em uma amostra de $n = 52$ sujeitos.

4.5 Protocolo

Foram selecionados indivíduos que realizaram transplante de células-tronco hematopoiéticas no Real Hospital Português de Beneficência de Pernambuco no ano de 2012. Foi utilizado o laser de Arseneto de Gálio Alumínio (AsGaAl) Therapy XT (DMC™) que apresenta luz vermelha com comprimento de onda de 660nm e luz infravermelha com comprimento de onda de 830nm, ambos com potência de 100mW, com *spot size* 0,028cm², aplicadas de forma pontual. A potência do laser foi mensurada mensalmente com um powermeter.

1ª ETAPA: PREVENÇÃO DA MUCOSITE ORAL

Os pacientes receberam laser vermelho (660nm) após o TCTH, cinco vezes por semana de forma profilática, em áreas específicas, sendo estas, nos lábios superior e inferior, mucosas jugais direita e esquerda, palato mole, palato duro, língua e assoalho bucal, com energia por

ponto de 2 J durante 20 segundos por ponto, com densidade de energia de 70 J/cm², conforme protocolo padrão da Instituição. Ao término foi calculada a área total irradiada (Abramoff et al., 2008; Bjordal *et al.*, 2011). Foi iniciado o protocolo do laser preventivo em 35 pacientes no D+1; em 10 no D+2; em 7 no D+3.

2ª ETAPA: TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL

Os pacientes que participaram da primeira fase e que desenvolveram mucosite oral foram convidados a participar da 2ª fase que teve por objetivo de realizar o tratamento da mucosite oral. Os sujeitos da pesquisa foram distribuídos de forma idêntica entre os dois tratamentos, de acordo com a lista de números randômicos gerada pelo programa EPI-INFO.

Os pacientes receberam laser cinco vezes por semana, com comprimento de onda vermelho nas mesmas áreas realizadas na 1ª etapa, com densidade de energia de 70 J/cm², sendo associado a aplicação do laser de comprimento de onda infravermelho de 830nm com energia por ponto de 35 J/cm², conforme protocolo padrão da Instituição. (Abramoff et al., 2008; Bjordal *et al.*, 2011, Cunha *et al.*, 2012).

Os fatores de crescimento (EGF 1%, bFGF 1%, TGFβ 1% e IGF 1%) estavam associados em uma única embalagem opaca, foram rotuladas em Orabase 1 e Orabase 2 2 pela farmácia de manipulação. Só foi informado à pesquisadora qual pomada era ativa, após o término do estudo. Os pacientes foram divididos em grupos em: Grupo A (Laserterapia + Placebo orobase – Grupo Controle) e Grupo B (Laserterapia + Fatores de Crescimento – Grupo Terapêutico). Foi realizada higiene oral antes da aplicação da laserterapia com a finalidade de remover qualquer eventual barreira mecânica.

Grupo A: (Laserterapia + Placebo em Orobace)

Além da laserterapia, a orabase foi aplicada duas vezes ao dia pela equipe de enfermagem, após a sessão de laserterapia e após a higienização oral noturna (Hong *et al.*, 2009, Wu *et al.*, 2009).

Grupo B: (Laserterapia + Fatores de Crescimento)

Além da laserterapia, a orabase foi aplicada duas vezes ao dia pela equipe de enfermagem, após a sessão de laserterapia e após a higienização oral noturna (Hong *et al.*, 2009, Wu *et al.*, 2009).

Acompanhamento

Todos os pacientes foram avaliados pela pesquisadora cinco vezes por semana, foi utilizado para verificar o possível desenvolvimento e/ou progressão de mucosite, utilizando o Sistema de Gradação de Mucosite da Organização Mundial de Saúde (OMS): grau 0 - indica ausência de mucosite; grau I - presença de úlcera indolor, eritema ou sensibilidade leve; grau II - presença de eritema doloroso, edema, ou úlceras que não interferem na habilidade do paciente em alimentar-se; grau III - úlceras confluentes, que interferem na capacidade do paciente em ingerir alimentos sólidos; e grau IV - sintoma severo que o paciente requer suporte enteral ou parenteral. Todos foram orientados a evitar o consumo de álcool, fumo e comidas ácidas, bem como manter uma boa higienização oral.

Coleta de Amostra Sanguínea

Foi coletado sangue dos pacientes em dois momentos (A e B): ao diagnosticar a mucosite oral e ao cessá-la. Com estas amostras foi realizado o ensaio imunoenzimático (ELISA) para dosar a concentração sorológica dos fatores EGF, IGF, TGF e FGF.

Avaliação laboratorial

As amostras sanguíneas foram centrifugadas à 3000 rpm durante 10 minutos para separar o soro do plasma e armazenadas em um refrigerador à -80°C. Para a determinação da concentração do EGF, IGF, TGF β e FGF foram utilizados Kits comerciais para ELISA, respectivamente, kit Fator de Crescimento Humano Pro-epidermal da Wuhan EIAab Science® com número de catálogo: E0560h; Invitrogen®: IGF-1R catálogo KHO0501; Invitrogen®: TGF- β 1 - catálogo KAC1688 e Invitrogen®: FGF-b Humano - catálogo KHG0021.

Análise de dados

Os métodos estatísticos usados foram: estatística descritiva; teste de Mann-Whitney (comparação dos valores entre os grupos placebo e ativo); Kruskal Wallis (comparação entre o grau de mucosite e concentração do EGF, FGF, IGF e TGF); Correlação de Spearman (comparação do número de sessões de LASER e duração de dias da mucosite) e T este pareado não paramétrico de Wilcoxon (comparação entre concentrações do EGF, FGF, IGF e TGF entre os momentos do diagnóstico da mucosite e após cessá-la). O nível de significância foi determinado em 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

Os resultados da pesquisa serão apresentados na forma de artigo científico, os quais estão dispostos no Apêndice

6 CONCLUSÕES

Conclui-se, baseado nos resultados, que a utilização tópica de fatores de crescimento associados à laserterapia constitui-se de uma alternativa para o tratamento da mucosite oral, sendo observado uma redução do número de dias de mucosite oral nos pacientes submetidos ao TCTH.

Referências

AGGARWAL BB, SAMANTA A, FELDMAN M. Cytokine, vol II. Chapter 31. In: Ensoli B, Sgadari C, Barillari G, Monini P (eds) *The fibroblast growth factors. Academic, San Diego*. p. 747–781, 2003.

ALLENDORF JDF, BESSLER M, HUANG J et al. Heliumneon laser irradiation at fluences of 1,2, and 4J/cm² failed to accelerate wound healing as assessed by both wound contracture rate and tensile strength. **Lasers Surg. Med.** v. 20, p. 340–3, 1997.

ALMEIDA-LOPES L. Análise in vitro da Proliferação Celular de Fibroblastos de Gengiva Humana Tratados com Laser de Baixa Potência. Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade Vale do Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências. 1999.

ANTUNES HS, AZEVEDO AM, BOUZAS LF, *et al.* Low-power laser in the prevention of induced oral mucositis in bone marrow transplantation patients: a randomized trial. **Blood**. v. 109, n.5, p.2250– 2255, 2007.

Antunes HS, Herchenhorn D, Small IA et al., Phase III trial of low-level laser therapy to prevent oral mucositis in head and neck cancer patients treated with concurrent chemoradiation. *Radiother Oncol*. 2013

ARANY PR, NAYAK RS, HALLIKERIMATH S, *et al.* Activation of latent TGF-beta1 by low-power laser in vitro correlates with increased TGF-beta1 levels in laser enhanced oral wound healing. **Wound Repair Regen.** v. 15, p. 866– 874, 2007.

ARORA *et al.* Efficacy of He-Ne Laser in the prevention and treatment of radiotherapy-induced oral mucositis in oral cancer patients. **Oral Surg Oral Med.** 2008.

ARUN MAIYA G, SAGAR MS, FERNANDES D. Effect of low level helium-neon (He-Ne) laser therapy in the prevention and treatment of radiation induced mucositis in head and neck cancer patients. **Indian J. Med. Res.** 124, 399–402, 2006.

BADER P, NIETHAMMER D, WILLASCH A, KREYENBERG H, KLINGEBIEL T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? **Bone Marrow Transplant.** n.35, v.2: p.107-19, 2005.

BAGNYUKOVA, T; SEREBRIISKII, I.G; ZHOU, Y; et al. Chemotherapy and signaling: How can targeted therapies supercharge cytotoxic agents? *Cancer Biol Ther.* v. 10, n. 9, p. 839-853, 2010.

BAIRED A, WALICKE PA. Fibroblast growth factors. **Br Med Bull.** v. 45, p.438–452, 1989.

BALBINO CA, PEREIRA LM, CURI R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** São Paulo, v. 41, n.1, 2005.

BARASCH A, PETERSON DE, TANZER JM, D'AMBROSIO JA, NUKI K, SCHUBERTMM, Franquin JC, Clive J, Tutschka P. Helium-neon laser effects on conditioning-induced oral mucositis in bone marrow transplantation patients. **Cancer.** v. 76, n.12, p.2550–2556, 1995.

BASU, T.; LASKAR, S.G.; GUPTA, T.; BUDRUKKAR, A.; MURTHY, V.; AGARWAL, J.P. Toxicity with radiotherapy for oral cancers and its management: a practical approach. *J Cancer Res Ther.* v. 8, Suppl 1, p. S72-84, 2012.

BENNET SP, GRIFFITHS GD, SCHOR AM, LEESE GP; SCHOR SL. Growth factors in the treatment of diabetic foot ulcers. **The British Journal of Surgery.** v. 90, p. 133-46, 2003.

BENZINELLI, LM. O atendimento odontológico no transplante de medula óssea: impacto clínico e econômico. 2010. Dissertação (Mestrado em Odontologia Social) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

BLAZAR BR, WEISDORF DJ, DEFOR T, GOLDMAN A, BRAUN T, SILVER S, FERRARA JL. Phase 1/2 randomized, placebo-control trial of palifermin to prevent graft-versus-host disease (GVHD) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). **Blood.** v. 108, p. 3216-22, 2006.

BOLWELL BJ, KALAYCIO M, SOBECKS R, ANDRESEN S, KUCZKOWSKI E, BERNHARD L, LOMAX R, KOHUTH J, MENDIOLA S, RYBICKI L, POHLMAN B. A multivariable analysis of factors influencing mucositis after autologous progenitor cell transplantation. **Bone Marrow Transplant.** v. 30, p. 587-9, 2002.

BRASIL CMV, SERPA MS, FRANÇA TRT, CASTRO, JFL. Management of oral mucositis. **Arch Oncol.** v.19, p.57-61, 2012.

BRASILEIRO FILHO G. Patologia Geral. 2º Ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 1998.

BRAUND R, HOOK S, MEDLICOTT NJ. The Role of Topical Growth Factors in Chronic Wounds. **Current Drug Delivery.** v. 4,p. 195-204, 2007.

CARVALHO PA, JAGUAR GC, PELLIZZON AC, PRADO JD, LOPES RN, ALVES FA. Evaluation of low-level laser therapy in the prevention and treatment of radiation-induced mucositis: a double-blind randomized study in head and neck cancer patients. **Oral Oncol.** Dec;47(12):1176-81, 2011.

CASADO MP, MARTÍNEZ CJ, KUSTNER EC, LÓPEZ JL. A protocol for the evaluation and treatment of oral mucositis in patients with hematological malignancies. **Medicina Oral.** v. 8, p.10-8, 2003.

CASTAGNA L, BENHAMOU E, PEDRAZA E, LUBOINSKI M, FORNI M, BRANDES I, PICO JL, DIETRICH PY. Prevention of mucositis in bone marrow

transplantation: a double blind randomised controlled trial of sucralfate. **Ann Oncol.** v.12, p. 953-5, 2001.

CENGİZ M, OZYAR E, OZTURK D, AKYOL F, ATAHAN L, HAYRAN M. Sucralfate in the prevention of radiation-induced oral mucositis. **J Clin Gastroenterol.** v.28, p. 40-3, 1999.

CLARK RAF. The molecular and cellular biology wound repair. 2 ed. **New York: Plenum Press;** 1996.

COTRAN RS, KUMAR V, COLLINS TR. Patologia Estrutural e Funcional. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p. 79-1000, 2000.

COWEN D, TARDIEU C, SCHUBERT M, PETERSON D, RESBEUT M, FAUCHER C, FRANQUIN JC. Low energy helium-neon laser in the 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, p.697–703, 1997.

CUNHA CB, EDUARDO FP, ZECELL DM, BEZINELLI LM, SHITARA PP, CORREA L. Effect of irradiation with red and infrared laser in the treatment of oral mucositis: a pilot study with patients undergoing chemotherapy with 5-FU. **Lasers Med Sci.** 2012 Nov;27(6):1233-40.

DAVIDSON JM, BROADLY KN. Manipulation of the wound healing process with basic fibroblast growth factor. **Ann NY Acad Sci.** v. 638, p.306–315, 1991.

DEENEN, M.J.; CATS, A.; BEIJNEN, J.H.; et al. Part 2: Pharmacogenetic variability in drug transport and phase I anticancer drug metabolism. **Oncologist.** v. 16, n. 6, p. 820–834, 2011.

DEL FANTE C, PEROTTI C, BONFERONI MC, ROSSI S, SANDRI G, FERRARI F, SCUDELLER L, CARAMELLA CM. Platelet lysate mucohadesive formulation to treat oral mucositis in graft versus host disease patients: a new therapeutic approach. **AAPS PharmSciTech.** v. 12, n.3, p. 893-9, 2011.

DIRIX, P.; NUYTS, S. Evidence-based organ-sparing radiotherapy in head and neck cancer. **Lancet Oncol.** v. 11, n. 1, p. 85-91, 2010.

DYSON M. Laser therapy in wound management, the new era. **Proceedings of Third Word Congress for Laser Therapy**, p. 20, 2000.

ELTING LS, KEEFE DM, SONIS ST, GARDEN AS, SPIJKERVET FK, BARASCH A, TISHLER RB, CANTY TP, KUDRIMOTI MK, VERA-LLONCH M. Patient-reported Measurements of Oral Mucositis in Head and Neck Cancer Patients Treated With Radiotherapy With or Without Chemotherapy. **Cancer** v.113, p.2704-13, 2008.

EPSTEIN, J.B.; THARIAT, J.; BENSADOUN, R.J.; BARASCH, A.; MURPHY, B.A.; KOLNICK, L.; POPPLEWELL, L.; MAGHAMI, E. Oral complications of cancer and cancer therapy: from cancer treatment to survivorship. **CA Cancer J Clin.** v. 62, n. 6, p. 400-422, 2012.

FAROUK AH, AL-WATBAN, BERNARD L ANDRES. Influence of the application of platelet-enriched plasma in oral mucosal wound healing. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**. v.18, n.3: p. 145-150. 2000.

FERREIRA P; GAMBA MA; SACONATO H; GUTIÉRREZ MGR. Treatment of mucositis in patients undergoing bone marrow transplantation: a systematic review. **Acta Paul Enferm**. v. 24, n. 4, p.563-70, 2011.

FLORES DA, LISAR RF. Effectiveness of palifermin in the prevention of oral mucositis in patients with haematological cancers. **Farm Hosp**. v. 34, n. 4, p. 163–169, 2010.

FREITAS IGF; BARANAUSKAS V; CRUZ-HÖFLING M.A. Laser effects on osteogenesis. **Appl. Surf. Sci.**, v. 154-155, p.548-554, 2000.

FREIRE MD, FREITAS R, COLOMBO F, VALENÇA A, MARQUES AM, SARMENTO VA. LED and laser photobiomodulation in the prevention and treatment of oral mucositis: experimental study in hamsters. **Clin Oral Investig**. 2013

FRIEDMAN H; LUBART R; LAULICHT I; ROCHKIND S. A possible explanation of laser-induced stimulation and damage of cell cultures. **J. Photochem. Photobiol. B: Biol.**, v 11, p 87-91, 1991

FU X, CHENG B, SHENG Z. Growth factors and wound healing: review and prospect in recent ten years. v.18, n.6, p.508-12, 2004.

FUJISAWA K, MIYAMOTO Y, NAGAYAMA M. Basic fibroblast growth factor and epidermal growth factor reverse impaired ulcer healing of the rabbit oral mucosa. **Journal of Oral Pathology & Medicine**. v.32, p.358–366, 2003.

GAO, X., XING, D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation. **J Biomed Sci**. v.16, n. 4, p.1–16, 2009.

GAUTAM AP, FERNANDES DJ, VIDYASAGAR MS, MAIYA AG, VADHIRAJA BM. Low level laser therapy for concurrent chemoradiotherapy induced oral mucositis in head and neck cancer patients - a triple blinded randomized controlled trial. **Radiother Oncol**. Sep;104(3):349-54. 2012.

GIRDLER NM, MCGURK M, AQUAL S, PRINCE M. The effect of epidermal growth factor mouthwash on cytotoxic-induced oral ulceration. A phase I clinical trial. **Am J Clin Oncol** v.18:p.403–10, 1995.

GLENNY AM, FERNANDEZ MAULEFFINCH LM, PAVITT S, WALSH T. Interventions for the prevention and treatment of herpes simplex virus in patients being treated for cancer. Cochrane Database of Systematic Reviews Issue 1, 2009.

GOSPODAROWICS D, GREENBURG G. The effects of epidermal and fibroblast growth factors on the repair of corneal endothelial wounds in bovine corneas maintained in organ culture. **Exp. Eye Res** v. 28, p.147-157, 1979.

GOSPODAROWICS D, MESCHER AL, BIRDWELL CR. Stimulation of corneal endothelial cell proliferation in vitro by fibroblast and epidermal growth factors. **Exp. Eye Res.** v. 25, p. 75-89, 1977.

GOSPODAROWICZ D. Fibroblast growth factors. Chemical structure and biological function. **Clin Orthop.** v. 257, p.231–248, 1990.

GOTTRUP F, STORGÅRD JENSEN S, ANDREASEN JO. Wound healing subsequent to injury. Chapter 1 in: Andreassen JO, Andreassen FM, Andersson L, editors. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth. 4th ed. Oxford, UK: **Blackwell Publishing Ltd**, p.1-61, 2007.

HAAS AF; ISSEROFF RR. Low energy helium-neon laser irradiation increases the motility of cultured human keratinocytes. **J. Invest. Dermatol.** v. 94, n. 6, p. 822-26, 1990.

HECHT E; ZAJAC A. Optica. **Addison-Wesley Iberoamericana**, S.A., 1986.

HENRIQUES ACG, MAIA AMA, CIMÕES R, CASTRO JFL. A laserterapia na odontologia: propriedades, indicações e aspectos atuais. **Odontologia Clínica-Científica.** v. 7, p. 197-200, 2008.

HONG JP, LEE SW, SONG SY, AHN SD, SHIN SS, CHOI EK *et al.* Recombinant human epidermal growth factor treatment of radiation-induced severe oral mucositis in patients with head and neck malignancies. **European Journal of Cancer Care** 18:636–641, 2009.

HONGO M, ITOI M, YAMAMURA Y, YAMAGUCHI N, IMANISHI J. Distribution of epidermal growth factor receptors in rabbit lens epithelial cells. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.** v.34, p.401-404, 1993.

HU WP, WANG JJ, YU CL, *et al.* Helium- neon laser irradiation stimulates cell proliferation through photostimulatory effects in mitochondria. **J. Invest. Dermatol.** v.127, p. 2048–2057, 2007.

HUMBEL RE. Insulin-like growth factors. **Eur J Biochem.** v. 190, p. 445–462, 1990.

HOFFMANN, T.K. Systemic therapy strategies for head-neck carcinomas: Current status. *GMS Current Topics in Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery* v. 11, 2012.

IBRAHIM EM, AL-MULHIM FA, AL-MUHANNA FA, AL-AMRI A. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on chemotherapy-induced oral mucositis in non-neutropenic cancer patients. **J Family Community Med.** v.5, n.1, p.37-43, 1997.

IHSAN FRM. Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. **Photomed Laser Surg.** v.23, n.3: p.289-294,2005.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil /, Coordenação Geral de Ações

Estratégicas, Coordenação de Prevenção e Vigilância. – Rio de Janeiro :Inca, p. 118, 2011.

IMANISHI J, KAMIYAMA K, IGUCHI I, KITA M, SOTOZONO C, KINOSHITA S. Growth Factors: Importance in Wound Healing and Maintenance of Transparency of the Cornea. **Progress in Retinal and Eye Research**. v. 19, n. 1, p. 113-129, 2000.

JAGUAR GC, PRADO JD, NISHIMOTO IN, PINHEIRO MC, CASTRO DO JR, CRUZ PEREZ DE, ALVES FA. Low-energy laser therapy for prevention of oral mucositis in hematopoietic stem cell transplantation. **Oral Dis**. v. 3, n.6, p. 538–543, 2007.

JAVAN A; BENNETT JR WR; HERRIOTT DR. Population inversion and continuous optical maser oscillation in a gas discharge containing a He-Ne mixture. **Phys. Rev. Letters**, v.6, p. 106-7, 1961.

KARTHAUS M, ROSENTHAL C, HUEBNER G, PAUL H, ELSER C, HERTENSTEIN B, KRAUTER J, SCHARMANN T, GEISSLER RG, HEIL G, GANSER A. Effect of topical oral G-CSF on oral mucositis: a randomised placebo-controlled trial. **Bone Marrow Transplant**. v.22, n.8, p.781-5, 1998.

KARU T. Mechanisms of low-power laser light action on cellular level. **Lasers Med. Dentistry**. Ed. By Z. Simunovic, Vitgraf: Rijeka. 97–125, 2000.

KARU T. Photobiology of low-power laser effects. **Health Phys.**, v.56, p.691- 704, 1989.

KARU T; PYATIBRAT L; KALENDO G. Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. **J. Photochem. Photobiol. B: Biol.**, V.27, p.219-233, 1995.

KARU T; SMOLYANINOVA N; ZELENIN A. Long-term and short-term responses of human lymphocytes to He-Ne laser radiation. **Lasers Life Sci.**, v.4, p.167-178, 1991.

KARU TI; KALENDO GS; LETOKHOV VS; LOBKO VV. Biostimulation of HeLa cells by low-intensity visible light. **II Nuovo Cimento**, v.1, p.828-840, 1982.

KARU, T. I. Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser radiation. **Lasers Life Sci**, v.2, n.1, p.53-74, 1988.

KELNER N, CASTRO JFL. Laser de baixa intensidade no tratamento da mucosite oral induzida pela radioterapia: relato de casos clínicos. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v. 53, n. 1, p. 29-33, 2007.

KHANNA, A., SHANKAR, L.R., KEELAN, M.H., et al. Augmentation of the expression of proangiogenic genes in cardiomyocytes with low dose laser irradiation in vitro. **Cardiovasc. Radiat. Med**. v.1, p.265–269, 1999.

KIPSHIDZE, N., NIKOLAYCHIK, V., KEELAN, M.H., et al. Low-power helium: neon laser irradiation enhances production of vascular endothelial growth factor and

promotes growth of endothelial cells in vitro. **Lasers Surg. Med.** v. 28, p. 355–364, 2001.

KOVÁCS IB, MESTER E, GORÔG P. Laser-induced stimulation of the vascularization on the healing wound. An ear chamber experiment. **Experientia.** v.30, p.341-3, 1974.

KUBASOVA T, FENYO M. Investigation on biological effect of polarized light. *Photochem. Photobiol.* v. 48, n. 8, p. 505-09, 1988.

LALLA RV, SONIS ST, PETERSON DE. Management of oral mucositis in patients who have cancer. **Dent Clin North Am.** v. 52, n. 1, p. 61-77, 2008.

LEE P, KIM K, KIM K. Effects of low incident energy levels of infrared laser irradiation on healing of infected open skin wound in rats. **Laser Ther.** v.5, p.59- 64, 1993.

LEE SW, JUNG KI, KIM YW, JUNG HD, KIM HS, HONG JP. Effect of epidermal growth factor against radiotherapyinduced oral mucositis in rats. **Int J Radiat Oncol Biol Phys.** v.67, p.1172-1178, 2007.

LEUNG MC, LO SC, SIU F, et al. Treatment of experimentally induced transient cerebral ischemia with low energy laser inhibits nitric oxide synthase activity and upregulates the expression of transforming growth factor-beta 1. **Lasers Surg. Med.** v. 31, p.283–288, 2002.

LI, C.Y.; et al. The correlation between the severity of radiotherapy-induced glossitis and endothelial cell injury in local tissues in a rat model. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* v. 16, n. 6, p. e711-e715, 2011.

LILLEBY K, GARCIA P, GOOLEY T, MCDONNNELL P, TABER R, HOLMBERG L, MALONEY DG, PRESS OW, BENSINGER W. A prospective, randomized study of cryotherapy during administration of high-dose melphalan to decrease the severity and duration of oral mucositis in patients with multiple myeloma undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplantation.** v.37, p. 1031-5, 2006.

LINDEBOOM JA, MATHURA KR, AARTMAN IH, KROON FH, MILSTEIN DM, INCE C. Influence of the application of platelet-enriched plasma in oral mucosal wound healing. **Clin Oral Implants Res.** v.18, n.1: p.133-9, 2007.

LOEVSCHALL H; ARENHOLT-BINDSLEV D. Effect of low level diode laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts in vitro. **Lasers Surg. Med.**, v. 14, p.347-354, 1994.

LUBART R; WOLLMAN Y; FRIEDMAN H; ROCHKIND S; LAULICHT I. Effects of visible and near-infrared laser on cell cultures. **J. Photochem. Photobiol. B: Biol.** v. 12, p.305-310, 1992.

MAIMAN TH. Stimulated optical radiation in rubi. **Nature**, v. 107, 493-4, 1960.

MAKKONEN TA, BOSTROM P, VILJA P, JOENSUU H. Sucralfate mouth washing in the prevention of radiation-induced mucositis: a placebocontrolled double-blind randomized study. **Int J Radiat Oncol Biol Phys.** v. 30, p.177-82, 1994.

MANCUSI SOBRINHO R, CORACIM FL, SANTOS MMMC, SANTOS PSS. Mucosite Oral em Pacientes Submetidos a Transplante de Medula Óssea. **Prática Hospitalar**, v. 63, p. 64-67, 2009.

MANDELBAUM SH, DISANTIS EP, MANDELBAUM MHS. Cicatrização:conceitos atuais e recursos auxiliares- Parte I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p.393-410, 2003.

MASSUMOTO C. Transplante de medula óssea. Texto disponível em URL: <http://www.tcthbr.com.br/oque.htm>. Acesso em 14/06/2012.

MCGUIRE DB, ALTOMONTE V, PETERSON DE, WINGARD JR, JONES RJ, GROCHOW LB. Patterns of mucositis and pain in patients receiving preparative chemotherapy and bone marrow transplantation. **Oncol Nurs Forum.** v. 20, p.1493-502, 1993.

MIGLIORATI C, HEWSON I, LALLA RV et al., Systematic review of laser and other light therapy for the management of oral mucositis in cancer patients. **Support Care Cancer.** Jan; 21(1):333-41, 2013.

MENDONÇA RJ, COUTINHO-NETTO J. Aspectos celulares da cicatrização. **An Bras Dermatol.** v. 84, n.3, p. 257-62, 2009.

MESTER E, SPIRY T, SZENDE B, TOTA JG. Effect of laser rays on wound healing. **Am. J. Surg.**, v. 122, p.532-5, 1971.

MÜLLER-SIEBURG CE, CHO RH, THOMAN M, ADKINS B, SIEBURG HB. Deterministic regulation of hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation. **Blood.** v. 100, n.4: p.1302-9, 2002.

MVULA B, MOORE TJ, ABRAHAMSE H. Effect of low-level laser irradiation and epidermal growth factor on adult human adipose-derived stem cells. **Lasers Med Sci.** v.25,n.1, p.:33-9.2010.

NARA Y; TSUKAMOTO Y, FUKUTANI S; YAMAGUCHI N; MORI M; MORIOKA T. Stimulative effect of He-Ne laser irradiation on cultured fibroblasts derived from human dental pulp. **Lasers Life Sci.**,v.4, p.249-256, 1992.

NASCIMENTO PM, PINHEIRO ALB, SALGADO MAC, RAMALHO LMP. Preliminary Report on the Effect of Laser Therapy on the Healing of Cutaneous Surgical Wounds as a Consequence of an Inversely Proportional Relationship between Wavelength and Intensity: Histological Study in Rats. **Photomedicine and Laser Surgery.** v 22, n. 6, p. 513–518, 2004.

NASH RA. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas J, Greer JP, Rodgers GM. **Wintrobe's clinical hematology.** 10^a ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. cap.15, p.875-89, 1999.

NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology – Head and Neck Cancers v.1.2010.

NORTON D. A bright future for light therapy. Post-publication addition to Pos. **Health Mag.**, 35:24-26, 1998.

NOTTAGE, M., MCLACHLAN, S. A., BRITTAIN, M. A., OZA, A., HEDLEY, D., FELD, R., SIU, L. L., POND, G. & MOORE, M. J. Sucralfate mouthwash for prevention and treatment of 5-fluorouracil-induced mucositis: a randomized, placebo-controlled trial. **Support Care Cancer**. n. 11, p. 41-7, 2003.

OKUNO SH, WOODHOUSE CO, LOPRINZI CL, SLOAN JA, LAVASSEUR BI, CLEMENS-SCHUTJER D, SWAN D, AXVIG C, EBBERT LP, TIRONA MR, MICHALAK JC, PIERSON N. Phase III controlled evaluation of glutamine for decreasing stomatitis in patients receiving fluorouracil (5-FU)-based chemotherapy. **Am J Clin Oncol**. v.22, p. 258-61, 1999.

OMS (2000) - Organização mundial da saúde. Câncer. Disponível em <http://www.oms.br>. Acesso em 25/04/2012.

ORSI, MCE. Laserterapia e transplante de medula óssea alogênico: efeitos sobre a manutenção da integridade da mucosa oral. 2010. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Lasers em Odontologia) - Instituto de Pesquisas Energeticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP; Faculdade de Odontologia, Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, Sao Paulo. 48 p.

ORTONNE JP; CLÉVY JP. Physiologie de la cicatrisation cutanée. **Rev. Prat**. v.44, n.13, p.1733-4.

PESEVSKA S, NAKOVA M, PEJCIC A, IVANOVSKI K, ANGELOV N, MINDOVA S. Biostimulative Laser Therapy: base for favorized and accented results in Dentistry. **Acta Fac Med Naiss**. v. 23, n. 1, p. 75-78, 2006.

PINHEIRO AL, CAVALCANTI ET, PINHEIRO TI, ALVES MJ, MIRANDA ER, DE QUEVEDO AS, MANZI CT, VIEIRA AL, ROLIM AB. Low-level lasertherapy is an important tool to treat disorders of the maxillofacial region. **J Clin. Laser Med. Surg.**, v. 16, p.223-6, 1998.

RAMIREZ-AMADOR V, ANAYA-SAAVEDRA G, CRESPO-SOLIS E, CAMACHO EI, GONZALEZ-RAMIREZ I, PONCE-DE-LEON S. Prospective evaluation of oral mucositis in acute leukemia patients receiving chemotherapy. **Support Care Cancer**. v.18, p. 639-46, 2010.

Registro Brasileiro de Transplantes (RBT). ANO XVII. Janeiro / Setembro 2011. Disponível em : www.abto.org.br Acessado em: 23.01.2012.

REYA T, MORRISON SJ, CLARKE MF, WEISSMAN IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. **Nature**. v. 414, n.6859: p.105-11, 2001.

RIBEIRO MS; SILVA DFT; MALDONADO EP. Effects of 1047nm Neodymium Laser Radiation on Skin Wound Healing. **J. Clin. Laser Surg. Med**, v. 20, n. 1, p. 37-40, 2002.

RUBENSTEIN EB, PETERSON DE, SCHUBERT M, KEEFE D, MCGUIRE D, EPSTEIN J, ELTING L.S, FOX PC, COOKSLEY C, SONIS ST. Clinical Practice Guidelines for the prevention and treatment of Cancer Therapy-Induced Oral and Gastrointestinal Mucositis. For the Mucositis Section of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer and the International Society for Oral **Oncology, Cancer.** v. 100, n. 9, p.2026-46, 2004.

RUESCHER JT, SODEIFI A, SCRIVANI SJ, KABAN LB, SONIS ST. The impact of mucositis on α -hemolytic streptococcal infection in patients undergoing autologous bone marrow transplantation for hematologic malignancies. **Cancer.** v.82, n.11, p.2275-81, 1998.

SAFAVI SM, KAZEMI B, ESMAEILI M., et al. Effects of low-level He-Ne laser irradiation on the gene expression of IL-1b, TNF-a, IFN-g, TGF-b, bFGF, and PDGF in rat's gingival. **Lasers Med. Sci.** v. 23, p.331-335, 2008.

SALVADOR PT. Factors influencing the incidence and severity of oral mucositis in patients undergoing autologous stem cell transplantation. **Can Oncol Nurs J.** v.15, p.29-34, 2005.

SAPERIA D, GASSBERG E, LYONS RF, ABERGEL RP, BANEUX P, CASTEL JC, DWYER R, UITTO J. Demonstration of elevated type I and type III procollagen mRNA levels in cutaneous wounds treated with Helium-Neon laser. **Biochem. Biophys. Res. Com.** v.138, p.1123-8, 1986.

SARACINO, S., MOZZATI, M., MARTINASSO, G., et al. Superpulsed laser irradiation increases osteoblast activity via modulation of bone morphogenetic factors. **Lasers Surg. Med.** v. 41, p. 298-304, 2009.

SCHAFFER M; BONEL H; SROKA R; SCHAFFER PM; BUSCH M; REISER M, DUHMKE E. Effects of 780 nm diode laser irradiation on blood microcirculation: preliminary findings on time-dependent T1-weighted contrastenhanced magnetic resonance imaging (MRI). **J. Photochem. Photobiol. B: Biol.**, V.54, p.55-60, 2000.

SCHAWLOW AL; TOWNES CH, Infrared and optical masers. **Phys. Rev.**, v.112, p. 1940-9, 1958.

SCHINDL A; SCHINDL M; JURECKA W. Increased dermal angiogenesis after low-intensity laser therapy for a chronic ulcer determined by a video measuring system. **J Am Acad Dermatol.** v. 40, n. 3, p. 481-484, 1999.

SCHINDL M; KERSCHAN K; SCHINDL A; SCHÖN H; HEINZL H.; SCHINDL L. Induction of complete wound healing in recalcitrant ulcers by low intensity laser irradiation depends on ulcer cause and size. **Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.**, v. 15, p. 18-21, 1999.

SCHUBERT M. Measurement of Oral Tissue Damage and Mucositis Pain. In: CHAMPMAN CR, F. K. E. (ed.) **Current and Emerging Issues on Cancer Pain: Research and Practice.** New York: Raven Press. 1993.

SCULLY C, EPSTEIN J, SONIS S. Oral mucositis: a challenging complication of radiotherapy, chemotherapy, and radiochemotherapy: part 1, pathogenesis and prophylaxis of mucositis. **Head & neck**. v.25, p.1057-70, 2003.

SCULLY C, SONIS S, DIZ PD. Oral mucositis. **Oral Dis**. v. 12, n. 3, p. 229-41, 2006.

SHIMIZU N; MAYAHARA K, KIYOSAKI T, YAMAGUCHI A, OZAWA Y, ABIKO Y. Low- intensity laser irradiation stimulates bone nodule formation via insulin-like growth factor-i expression in rat calvarial cells. **Lasers Surg Med**. v.39, n.6; p.551-559, 2007.

SILVA ARP. Estudo das Propriedades bioquímicas de sistemas poliméricos arborescentes PGLD-AAS para tratamento do câncer. Dissertação do Mestrado. Universidade Federal de Itajubá, Minas Gerais, 2008.

SIMUNOVIC Z, TROBONJACA T, TROBONJACAM Z. Treatment of Medial and Lateral Epicondylitis - Tennis and Golfer's Elbow - with low-level laser therapy: a multicenter double blind, placebo-controlled clinical study on 324 patients. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v. 16, p. 145-151, 1998.

SONIS ST, FEY EG. Oral complications of cancer therapy. **Oncology** (Williston Park). v. 16, n.5, p. 680-6, 2002.

SONIS ST, OSTER G, FUCHS H, *et al*. Oral mucositis and the clinical and economic outcomes of hematopoietic stem-cell transplantation. **J Clin Oncol**. v.19, n. 8, p. 2201-5, 2001.

SONIS ST. Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. **Oral Oncology**. v. 45, p.1015–1020, 2009.

SONIS ST. Prevention of Chemotherapy-induced Ulcerative Mucositis by Transforming Growth Factor β 3. **Cancer Research** 54. 1135-1138. March 1994.

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

SORRENTINO BP. Clinical strategies for expansion of hematopoietic stem cells. **Nat Rev Immunol**. v.4, n.11: p.878-88, 2004.

SOUSA, APC, VALENÇA NETO AAPA, MARCHIONNI AMT, RAMOS MA, REIS JÚNIOR *et al*. Effect of LED Phototherapy (1700_20 nm) on TGF-b Expression During Wound Healing: An Immunohistochemical Study in a Rodent Model **Photomedicine and Laser Surgery**. v 29, n. 9, p. 605–611, 2011.

SPIELBERGER R, STIFF P, BENSINGER W, *et al*. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. **The New England Journal of Medicine**. v. 351, p. 2590-8, 2004.

SPIJKERVET FK, HOROWITZ M. Oral mucositis and the clinical and economic outcomes of hematopoietic stem-cell transplantation. **J Clin Oncol**. v.19, n. 8, p. 2201-5, 2001.

SROKA R; SCHAFFER M; FUCHS C; PONGRATZ T; SCHRADERREICHARD U; BUSCH M; SCHAFFER PM, DUHMKE E; BAUMGARTNER R. Effects on the mitosis of normal and tumor cells induced by light treatment of different wavelengths. **Lasers Surg. Med.** v.25, p.263-271, 1999.

SURINCHAK JS, ALAGO ML, BELLAMY RF, STUCK BE, BELKIN M. Effects of low-level energy lasers on the healing of full-thickness skin defects. **Lasers Surg. Med.**, v.2, p.263-274, 1983.

TERRANOVA VP, WIKESJÖ UME. Extracellular matrices and polypeptide growth factors as mediators of functions of cells of the periodontium. A review. **J Periodontol.**v. 58, p.371–380, 1987.

TROTTI A, BELLM LA, EPSTEIN JB, FRAME D, FUCHS HJ, GWEDE CK *et al.* Mucositis incidence, severity and associated outcomes in patients with head and neck cancer receiving radiotherapy with or without chemotherapy: a systematic literature review. **Radiotherapy Oncology.** v. 66, n. 3, p. 253-62, 2003.

TUCHIN, V.V. Fundamentals of the interaction of low-intensity laser radiation with biotissues: dosimetric and diagnostic therapeutics. Bull. **Russian Acad. Soc.** v.59, p. 1031-1053, 1995.

TUNER J; HODE L. It's all in parameters: a críffical analysis of some wellknow negative studies on low-level laser therapy. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v. 16, p. 245-8, 1998.

TUYET HL *et al.* The efficacy and safety of epidermal growth factor in treatment of diabetic foot ulcers: the preliminary results. **Int Wound J.** v. 6, n.2, p. 159-66, 2009.

UTSUNOMIYA TA. Histopathological study of the effects of low power laser irradiation on wound healing of exposed dental pulp tissues in dogs, with special reference to lectins and collagens. **J. Endodont.** v.24, p. 187-193, 1998.

VERA-LLONCH M, OSTER G, FORD CM, LU J, SONIS S. Oral mucositis and outcomes of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in patients with hematologic malignancies. **Support Care Cancer.** v.15, p. 491-6, 2007.

VERMOLENA FJ, VAN BAARENA E, ADAMB JA. A simplified model for growth factor induced healing of wounds. **Mathematical and Computer Modelling.** v.44, p. 887–898, 2006.

VOLPATO LER, SILVA TC, OLIVEIRA TM, SAKAI VT, MACHADO MAAM. Mucosite bucal rádio e quimioinduzida.**Revista Brasileira de Otorrinolaringologia.** v. 73, p. 562-68, 2007.

WAHL SM, CATELY CL. Modulation of fibroblast growth by a lymphokine of human T-cell and continuous T cell line origin. **J Immunol.** v. 130, p.1226–1230, 1983.

WALKER MD, RUMPF S, BAXTER GD, HIRST DG, LOWE AS. Effect of low-intensity laser irradiation (660 nm) on a radiation-impaired wound-healing model in murine skin. **Lasers Surg. Med.**, v.26, p.41-7, 2000.

WAN YY, FLAVELL RA. 'Yin-Yang' functions of TGF- β and Tregs in immune regulation. **Immunol Rev.** v. 220, p.199–213, 2007.

WANG H, RADJENDIRANE V, WARY KK, et al. transforming growth factor β regulates cell–cell adhesion through extracellular matrix remodeling and activation of focal adhesion kinase in human colon carcinoma Moser cells. **Oncogene.** v. 23, p.5558–5561, 2004.

WANG JC, DOEDENS M, DICK JE. Primitive human hematopoietic cells are enriched in cord blood compared with adult bone marrow or mobilized peripheral blood as measured by the quantitative in vivo SCID-repopulating cell assay. **Blood.** v. 89, n.11: p.3919-24, 1997.

WARDLEY AM, JAYSON GC, SWINDELL R, MORGENSTERN GR, CHANG J, BLOOR R, FRASER J, SCARFFE JH. Prospective evaluation of oral mucositis in patients receiving myeloablative conditioning regimens and haemopoietic progenitor rescue. **Br J Haematol.** v. 110, n. 2, p. 292-9, 2000.

WOGNUM AW, EAVES AC, THOMAS TE. Identification and isolation of hematopoietic stem cells. **Arch Med Res.** v. 34, n.6: p. 461-75, 2003.

WOO SB, SONIS ST, MONOPOLI MM, SONIS AL. A longitudinal study of oral ulcerative mucositis in bone marrow transplant recipients. **Cancer.** v.72, p.1612-7, 1993.

WOO SLY, HILDEBRAND KMD, WATANABE NMD, FENWICK JA, PAPAGEORGIOU CD, WANG, JHC. Tissue engineering of ligament and tendon healing. **Clinical Orthopedics and Relates Research.** v. 367, p. S312-S323, 1999.

WU HG, HONG SY, KIM YS, OH YT, LEE CG, KEUM KC, AHN YC, LEE SW. Therapeutic Effect of Recombinant Human Epidermal Growth Factor (RhEGF) on Mucositis in Patients Undergoing Radiotherapy, With or Without Chemotherapy, for Head And Neck Cancer. A Double-blind Placebo-controlled Prospective Phase 2 Multi-institutional. Clinical Trial. **Cancer.** v.115, p. 3699-708, 2009.

WYMENGA MAN, VAN DER GRAAF WTA, HOFSTRA LS, et al. Phase I Study of Transforming Growth Factor- β 3 Mouthwashes for Prevention of Chemotherapy-induced Mucositis. **Clin Cancer Res.** v.5, p.1363–1368, 1999.

YAMAMOTO Y; KONO T; KOTANI H, KASAI S; MITO M. Effect of lowpower laser irradiation on procollagen synthesis in human fibroblasts. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v. 14, p. 129-132, 1996.

YARDEN Y, ULLRICH A. Growth factor receptor tyrosine kinases. **Annu Rev Biochem** 57:443–478, 1988.

YOUNG S, BOLTON P, DYSON M. Macrophage responsiveness to light therapy. **Lasers in Surgery and Medicine.** v. 9, p. 497-505, 1989.

ZYRYANOV BN. Cooper-vapor low intensity laser therapy. In: Laser Use in Oncology: **CIS Selected Papers**, v. 2728, p. 100-107, 1996.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu.....RG.....abaixo assinado, dou o meu consentimento livre e esclarecido para participação no projeto de pesquisa intitulado: “AVALIAÇÃO DO USO DE LASERTERAPIA DE BAIXA POTENCIA E DE FATORES DE CRESCIMENTO EM ORABASE EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRANSPLANTE DE MEDULA OSSEA”, a pesquisa é coordenada por Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro, a quem poderei contatar / consultar a qualquer momento que julgar necessário através do telefone nº21268338 ou e-mail jlisboa72@hotmail.com, ou da pesquisadora: Catarina da Mota Vasconcelos Brasil, telefone nº 91721531 ou e-mail catarinamvbrasil@hotmail.com

1. O objetivo da pesquisa é: Avaliar o uso dos fatores de crescimento (proteínas relacionadas a cicatrização) associados ou não a laserterapia, no tratamento da mucosite (ferida na boca) em pacientes submetidos ao transplante de medula óssea.

2. Durante o estudo será realizado: A aplicação do laser em pacientes que desenvolveram mucosite e uso tópico de fatores de crescimento em forma de creme pomada, 2 vezes ao dia, bem como coleta do sangue no início do tratamento da mucosite e no momento em que encerrá-la.

3. Afirmando que aceitei participar por minha própria vontade, sem receber qualquer incentivo financeiro e com a finalidade exclusiva de colaborar para o sucesso da pesquisa, assim como fui informado(a) dos objetivos estritamente acadêmicos deste estudo

4. Estou livre para interromper a qualquer momento minha participação na pesquisa, se assim desejar, por qualquer motivo, estando ciente de que tal fato não irá alterar a qualidade nem meus direitos quanto ao / atendimento recebido;

5. Fui também esclarecido(a) de que o uso das informações por mim oferecidas estão submetidas às normas éticas destinadas à pesquisa envolvendo seres humanos, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Conselho Nacional de Saúde (CNS), do Ministério da Saúde (MS). Compreendo que minha identidade será mantida em sigilo e que os resultados da pesquisa poderão ser apresentados em eventos e publicações científicas.

6. Riscos e Benefícios

Riscos

O risco decorrente desta pesquisa será aquele inerente ao constrangimento em responder a entrevista.

. Benefícios: Você receberá benefícios com esta pesquisa, pois caso seja comprovada a efetividade do laser, medidas terapêuticas poderão ser utilizadas nos pacientes submetidos ao

tratamento quimioterápico, evitando ou reduzindo o grau de mucosites orais, tão prejudicial ao tratamento do paciente.

7. Estou ciente de que, caso eu tenha dúvidas ou me sinta prejudicado(a), poderei entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Pernambucana de Combate ao Câncer / Hospital de Câncer de Pernambuco, situado na Av. Cruz Cabugá, 1597 – Santo Amaro/Recife – (081) 32178197, para apresentar recursos ou reclamações em relação à pesquisa, o qual tomará as medidas cabíveis.

8. O pesquisador principal da pesquisa me ofertou uma cópia assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme recomendações da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)

Recife, de de 2012.

Participante: _____

Testemunha: _____

Testemunha: _____

Assinatura do(a) pesquisador(a): _____

APÊNDICE B

Avaliação do uso de laserterapia de baixa potência e uso tópico de fatores de crescimento em pacientes submetidos a transplante de medula óssea.

Real Hospital Português

Prontuário N°.

Paciente: _____
Gênero: () 1-Fem () 2-Masc Idade: _____ Data nasc. _____ Naturalidade: _____
Cor da pele: _____ Estado Civil: _____ Profissão: _____
Endereço: _____
Telefone: _____ Renda familiar: _____ (SM) N°. de pessoas que moram na casa: _____ Grau de escolaridade: () Não alfabetizado () Educação Infantil () Ensino fundamental () Ensino médio () Ensino superior (C= completo; I= incompleto)
Localização primária da lesão maligna: _____
Nunca fumou: _____ Fumante: _____ Ex-fumante: _____ Por quanto tempo: _____
Idade de início: _____ Parou há quanto tempo? _____
Geralmente quanto fuma(va) por dia?: _____ (☐ Cigarros ☐ Cachimbos ☐ Charutos) (0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30, 30-40, +40)
História Médica: _____

Agente(s) Quimioterápicos: _____
Dosagem da Quimioterapia: _____
Sessão da Quimioterapia: _____
Medicamentos em uso ou utilizados no último mês: _____

EXAME FÍSICO:

Linfonodos () Sem alterações () Presente alterações _____
Glând. Salivares () Sem alterações () Presente alterações _____
Lábios () Sem alterações () Presente alterações _____
Mucosa Jugal () Sem alterações () Presente alterações _____
Palato () Sem alterações () Presente alterações _____
Língua () Sem alterações () Presente alterações _____
Assoalho () Sem alterações () Presente alterações _____
Gengiva () Sem alterações () Presente alterações _____
Cárie: () Ausente () Presente Elementos _____
Resto Radicular () Ausente () Presente Elementos _____
Doença Periodontal: () Ausente () Gengivite () Periodontite Leve () Periodontite Moderada () Periodontite Severa
Próteses () Não usa () Presente Tipo de prótese: _____
Tempo de uso: _____ Higiene: _____

EXAMES COMPLEMENTARES:

Exame Radiográfico:

() Panorâmica () TC () RM

() Cárie () Doença Periodontal () Restos radiculares () Lesão periapical

() Outros _____

Data: ____/____/____

Hemograma:

Eritrócito:

Hemoglobina:

Hematócrito:

HCM:

VCM:

CHCM:

RDW:

Leucograma:

Leucócitos:

Neutrófilos:

Eosinófilos:

Basófilos:

Linfócitos:

Monócitos:

Plaquetas:**Coagulograma:****TGO:****TGP:****Creatinina:**

Glicose:

Peso:

Altura:

Febre: ____

EFEITOS COLATERAIS DO TRATAMENTO ANTI-NEOPLÁSICO

Dermatite () Sem alterações () Presente _____

Edema () Sem alterações () Presente _____

Trismo () Sem alterações () Presente _____

Paladar 1. () Sem alterações 2. () Perda parcial 3. () Perda total

Alimentação 1. () Líquidos e Sólidos 2. () Líquidos 3. () Enteral

Úlceras orais () Sem alterações () Presente _____

Infecção fúngica () Sem alterações () Presente _____

Grau de Mucosite: 0. () Sem evidência 1. () Eritema Assintomático 2. () Sensibilidade, úlceras, alimentos sólidos 3. () Dor, úlceras, alimentos líquidos

4. () Alimentação Enteral

Escala de Dor: 0 (Sem dor)-----10 (Dor máxima)

Volume de saliva/minuto: _____

Fotografia N°:

Observações

APÊNDICE C

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO USO DE FATORES DE CRESCIMENTO EM ORABASE E LASERTERAPIA NO TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL EM PACIENTES SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

Catarina da Mota Vasconcelos Brasil¹

¹Doutora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, Recife / PE, Brasil.

Corresponding Author:

CATARINA DA MOTA VASCONCELOS BRASIL

ADDRESS: Rua dos Navegantes, 2401, apto 21, Boa Viagem, Recife PE

CEP: 51020-011

Telephone: +55 81 91721531 / Fax: +55 81 2126 8817

Email: catarinamvbrasil@hotmail.com

RESUMO

Introdução: A mucosite oral (MO) é uma inflamação aguda da mucosa decorrente do tratamento antineoplásico que pode resultar em dor, pode limitar a fala, a mastigação e aumenta os riscos de desenvolvimento de infecções por microorganismos oportunistas. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do uso tópico de fatores de crescimento (EGF, IGF, TGF β 3, bFGF) veiculados em orabase, associados a laserterapia para tratamento da MO em pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas. **Métodos:** Todos os pacientes receberam LASER vermelho preventivo (685nm), em pontos específicos na mucosa bucal. Além da laserterapia terapêutica, os pacientes foram divididos em grupo A (orabase-placebo) e grupo B (orabase-fatores de crescimento). Foi coletado sangue no momento do diagnóstico da MO e ao cessá-la, realizando o ELISA para dosar a concentração sorológica dos fatores de crescimento. **Resultados:** Observou-se uma redução do número de dias de MO nos pacientes do Grupo B (5,14 dias) em relação ao grupo A (7,28 dias) ($p=0,019$), sendo necessário menos sessões de laserterapia (4,89 sessões) em relação ao Grupo A (5,72 sessões). Não houve associação entre a concentração dos fatores de crescimento nos grupos avaliados e presença de mucosite. **Conclusão:** A utilização de fatores de crescimento tópico associado à laserterapia pode ser uma alternativa terapêutica para o tratamento da MO. Observou-se uma redução do número de dias com MO.

Palavras-chave: Transplante de células tronco hematopoiéticas; Mucosite Oral; LASER; Fatores de crescimento

INTRODUÇÃO

A mucosite oral (MO) é uma inflamação da mucosa resultante de tratamentos oncológicos que se manifesta clinicamente desde sintomas mínimos de lesões eritematosas a ulcerações e dores intensas [1,2]. Tem um alto índice de ocorrência em pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), acometendo entre 80-100% dos pacientes que recebem quimioterapia ablativa ou irradiação de corpo total (Total Body Irradiation/TBI) como condicionamento para o transplante. Além do mais, pode ter grande repercussão no estado geral do paciente [3,4,5].

O uso de LASER de baixa intensidade tem sido relatado como eficaz na redução da severidade de mucosite oral tanto em estudos realizados em animais como em humanos [6,7,8,9,10]. O LASER além de agir na cicatrização de tecidos, promove um efeito analgésico, reduz edema, previne infecções e aumenta a formação de novos capilares conseguido pela liberação de fatores de crescimento [11,12,13,14].

A literatura cita como uma nova alternativa para acelerar feridas, a utilização de fatores de crescimento que são proteínas que aceleram a granulação tecidual e estimulam a divisão e proliferação celular. Entre os fatores investigados estão: o Fator Transformador Beta (TFG- β), Fator de Crescimento Fibroblástico Básico (bFGF), Fator de Crescimento Semelhante à Insulina (IGF) e o Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) [15,16].

O EGF está presente em vários tecidos normais e fluidos corporais, incluindo a pele, mucosa, as lágrimas, a córnea, a saliva, leite, sêmen e fluidos secretados pelas glândulas duodenais. Desempenha um papel importante na manutenção da homeostase dos tecidos, uma vez que regula a proliferação das células epiteliais, o crescimento e a migração. Além disso, tem um efeito sobre a angiogênese para o apoio nutricional de tecidos, exercendo um efeito importante sobre a cicatrização de feridas e formação de tecido. Foi observado que o EGF humano recombinante (rhEGF) pode acelerar o processo de cicatrização de feridas da mucosa, sendo utilizado no tratamento da mucosite por quimio e/ou radioinduzida [17,18,19,20].

O FGF tem sido detectado em macrófagos e quando liberado a partir de células danificadas, desempenha um papel crucial nos processos de cicatrização de feridas. Estimula a proliferação de todos os tipos celulares envolvidos no processo de cicatrização de feridas, tanto *in vitro* como *in vivo* incluindo fibroblastos, células endoteliais dos capilares, músculos lisos, e outros tipos de células tais como condrócitos e mioblastos, que são envolvidas no processo de cicatrização de tecidos especializados [21,22].

O fator de crescimento queratinócito 1 (FGF-7 - palifermin) é um membro do fator de crescimento fibroblástico, é mitogênico para células epiteliais e endoteliais, fibroblastos e queratinócitos. O FGF-20

(velafermin) [23] e o KGF 2 (repifermin), [24], tem uma atividade com KGF-1, mas também pode ter outras ações que impactam a sua eficácia. A utilização do fator de crescimento de queratinócitos também está associada a uma redução de incidência e duração da mucosite oral, em especial ao uso do Palifermin [16,25,26].

O IGF tem uma elevada afinidade a proteínas de ligação que funcionam como proteínas transportadoras em vários fluidos biológicos, media o transporte de IGFs do espaço vascular, e alarga as suas meias-vidas. Tratamento de feridas com IGF-I exógeno tem mostrado acelerar a cicatrização de feridas através do aumento da síntese de colágeno e do seu efeito mitogênico em queratinócitos e fibroblastos [27,28].

O TGF- β é uma citocina multifuncional secretada pelas plaquetas, linfócitos T, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos e outros tipos celulares. Ele apresenta efeitos anti-inflamatórios e proliferativos durante a reparação tecidual. Além disso, influencia a formação e remodelação da matriz extracelular; estimula a migração dos queratinócitos, angiogênese e diferenciação de fibroblastos; inibe a proliferação de queratinócitos; regula a expressão da integrina e citocinas, e também possuem uma propriedade de auto-indução [29,30].

Sonis et al., (1994) utilizaram o fator de crescimento transformador β de forma tópica para tratamento na mucosite quimioinduzida e foi observado uma redução na incidência, severidade e duração da mucosite oral [31]. Taylor *et al.* [32], utilizaram fatores de crescimento como TGF- β , FGF, IGF e fator de crescimento derivado de plaquetas em células epiteliais *in vitro* submetidas a danos quimioterápicos e verificaram que o TGF- β e FGF foram efetivos. Não há evidências que a utilização de bochechos utilizando fator estimulador de colônia-granulocito-macrófago (GM-CSF) possam ser utilizados para prevenção de mucosite oral [15].

O objetivo deste estudo pioneiro foi avaliar a eficácia tópica dos fatores de crescimento EGF 1%, IGF 1%, TGF β 1%, bFGF 1% veiculados em orabase, associados a laserterapia, no tratamento da mucosite oral em pacientes submetidos a transplante de células tronco hematopoiéticas.

METODOLOGIA

Tipo de estudo

Foi realizado um ensaio clínico, controlado, duplo cego, randomizado, no qual foi avaliada a eficácia dos fatores de crescimento em orabase associados à laserterapia de baixa potência, em comparação ao placebo orabase associado à laserterapia de baixa intensidade. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do Hospital de Câncer de Pernambuco nº71/2010 (CAAE: 0050.0.447.447-10).

Critérios de inclusão

Nos critérios de inclusão se enquadraram pacientes que realizaram o transplante de células-tronco hematopoiéticas e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), após informação sobre todas as etapas do estudo, realização dos exames e administração das drogas.

Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram pacientes que apresentem alterações na mucosa oral de qualquer etiologia.

Cálculo do tamanho da amostra

Esta amostra foi calculada pelo programa Epi Info (versão 3.5.1) com intervalo de confiança de 95% baseando-se em um universo amostral correspondente a 87 pacientes que se submeteriam ao transplante de medula óssea no estado de Pernambuco em 2012, segundo dados da Estatística Nacional. Estudos mostram que a prevalência da mucosite oral nestes pacientes, varia entre 80% - Flores *et al.*, 2010; 99% - Wardley *et al.*, 2000; 100% - Benzinelli *et al.*, 2010, sendo a média destas prevalências $P=93\%$, que resultou em uma amostra de $n = 52$ sujeitos.

Protocolo

Foram selecionados indivíduos que realizaram transplante de células-tronco hematopoiéticas no Real Hospital Português de Beneficência de Pernambuco no ano de 2012.

Foi utilizado o laser de Arseneto de Gálio Alumínio (AsGaAl) Therapy XT (DMC™) que apresenta luz vermelha com comprimento de onda de 660nm e luz infravermelha com comprimento de onda de 830nm, ambos com potência de 100mW, com *spot size* 0,028cm², aplicadas de forma pontual. A potência do laser foi mensurada mensalmente com um powermeter.

1ª ETAPA – PREVENÇÃO DA MUCOSITE ORAL

Os pacientes receberam laser vermelho (660nm) após o TCTH, cinco vezes por semana de forma profilática, em áreas específicas, sendo estas, nos lábios superior e inferior, mucosas jugais direita e esquerda, palato mole, palato duro, língua e assoalho bucal, com energia por ponto de 2 J durante 20 segundos por ponto, com densidade de energia de 70 J/cm², conforme protocolo padrão da Instituição. Ao término foi calculada a área total irradiada [10,33]. Foi iniciado o protocolo do laser preventivo em 35 pacientes no D+1; em 10 no D+2; em 7 no D+3.

2ª ETAPA – TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL

Os pacientes que participaram da primeira fase e que desenvolveram mucosite oral foram convidados a participar da 2ª fase que teve por objetivo de realizar o tratamento da mucosite oral. Os sujeitos da pesquisa foram

distribuídos de forma idêntica entre os dois tratamentos, de acordo com a lista de números randômicos gerada pelo programa EPI-INFO.

Os pacientes receberam laser cinco vezes por semana, com comprimento de onda vermelho nas mesmas áreas realizadas na 1ª etapa, com densidade de energia de 70 J/cm², sendo associado a aplicação do laser de comprimento de onda infravermelho de 830nm com energia por ponto de 35 J/cm², conforme protocolo padrão da Instituição [10,33, 34].

Os fatores de crescimento (EGF 1%, bFGF 1%, TGFβ 1% e IGF 1%) estavam associados em uma única embalagem opaca, foram rotuladas em Orabase 1 e Orabase 2 pela farmácia de manipulação. Só foi informado à pesquisadora qual pomada era ativa, após o término do estudo.

Os pacientes foram divididos em grupos em: Grupo A (Laserterapia + Placebo orabase – Grupo Controle) e Grupo B (Laserterapia + Fatores de Crescimento – Grupo Terapêutico).

Grupo A: (Laserterapia + Placebo em Orabase)

Além da laserterapia, a orabase foi aplicada duas vezes ao dia pela equipe de enfermagem, após a sessão de laserterapia e após a higienização oral noturna [19,20].

Grupo B: (Laserterapia + Fatores de Crescimento)

Além da laserterapia, a orabase foi aplicada duas vezes ao dia pela equipe de enfermagem, após a sessão de laserterapia e após a higienização oral noturna [19,20].

Acompanhamento

Todos os pacientes foram avaliados pela pesquisadora cinco vezes por semana, foi utilizado para verificar o possível desenvolvimento e/ou progressão de mucosite, utilizando o Sistema de Gradação de Mucosite da Organização Mundial de Saúde (OMS): grau 0 - indica ausência de mucosite; grau I - presença de úlcera indolor, eritema ou sensibilidade leve; grau II - presença de eritema doloroso, edema, ou úlceras que não interferem na habilidade do paciente em alimentar-se; grau III - úlceras confluentes, que interferem na capacidade do paciente em ingerir alimentos sólidos; e grau IV - sintoma severo que o paciente requer suporte enteral ou parenteral. Todos foram orientados a evitar o consumo de álcool, fumo e comidas ácidas, bem como manter uma boa higienização oral.

Coleta de Amostra Sanguínea

Foi coletado sangue dos pacientes em dois momentos (A e B): ao diagnosticar a mucosite oral e ao cessá-la. Com estas amostras foi realizado o ensaio imunoenzimático (ELISA) para dosar a concentração sorológica dos fatores EGF, IGF, TGF e FGF.

Avaliação laboratorial

As amostras sanguíneas foram centrifugadas à 3000 rpm durante 10 minutos para separar o soro do plasma e armazenadas em um refrigerador à -80°C. Para a determinação da concentração do EGF, IGF, TGF β e FGF foram utilizados Kits comerciais para ELISA, respectivamente, kit Fator de Crescimento Humano Pro-epidermal da Wuhan EIAab Science® com número de catálogo: E0560h; Invitrogen®: IGF-1R catálogo KHO0501; Invitrogen®: TGF- β 1 - catálogo KAC1688 e Invitrogen®: FGF-b Humano - catálogo KHG0021.

Análise de dados

Os métodos estatísticos usados foram: estatística descritiva; teste de Mann-Whitney (comparação dos valores entre os grupos placebo e ativo); Kruskal Wallis (comparação entre o grau de mucosite e concentração do EGF, FGF, IGF e TGF); Correlação de Spearman (comparação do número de sessões de LASER e duração de dias da mucosite) e T teste pareado não paramétrico de Wilcoxon (comparação entre concentrações do EGF, FGF, IGF e TGF entre os momentos do diagnóstico da mucosite e após cessá-la). O nível de significância foi determinado em 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Dos cinquenta e dois pacientes estudados, 29 eram pacientes do gênero masculino (55,8%) e por 23 do gênero feminino (44,2%), com média de idade de 38,8 anos. Conforme pode ser observado na tabela 01, 26/52 (50%) foram diagnosticados com Mieloma Múltiplo, 6/52 (11,5%) com Anemia Aplástica Severa, 5/52 (9,6%) com Leucemia Linfóide Aguda; 4/52 (7,7%) Linfoma de Hodgkin; 4/52 (7,7%) Leucemia Mieloide Aguda e 7/52 pacientes (13,4%) com outras patologias. Em relação ao tipo de transplante realizado, 31/52 (59,6%) foi do tipo autólogo e 21/52 (40,4%) do tipo alogênico.

Dezesseis (16/52) (30,8%) pacientes não desenvolveram mucosite oral e dos 36/52 (69,2%) que desenvolveram, 18/36 (50%) - grau I, 15/36 (41,7%) - grau II, 3/36 (8,3%) - grau III e nenhum paciente desenvolveu grau IV. Ou seja, apenas 18/52 (34%) desenvolveram ulceração oral (grau II + grau III), conforme pode ser observado na tabela 02.

O sítio mais acometido foi mucosa jugal (42,3%), seguido de assoalho bucal com 30,8%. A média de dias com a mucosite foi de 6,2 dias, variando entre 1 e 14 dias. Não houve correlação estatisticamente significativa entre o tipo de transplante (autólogo ou alogênico) e a presença de MO.

Verificou-se que a distribuição do número de dias da mucosite oral aumenta com o aumento do grau da mucosite oral, ou seja, quanto mais severa a mucosite mais dias são necessários para sua cicatrização, sendo estatisticamente significativa com valor de $p=0,018$, quando se utilizou o teste não paramétrico de Kruskal Wallis, conforme boxplot 01.

Em relação a duração de dias com mucosite oral, verificou-se que esta diminui com o uso de fatores de crescimento, 5,11 dias (grupo tratamento) versus 7,28 dias (grupo placebo), sendo estatisticamente significativa com valor de $p=0,019$, quando se utilizou o teste não paramétrico U de Mann Whitney. Os pacientes 14 e 28 podem ser considerados pontos extremos, ou seja, outliers com um número acima de 12 dias da mucosite, conforme boxplot 02.

Observa-se que houve uma forte correlação entre o número de sessões de laser no tratamento e a duração de dias da mucosite oral, ao ser aplicado o coeficiente de correlação de Spearman, conforme observado na tabela 03 (valores acima de 0,7), com $p<0,001$.

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre as variáveis FGF, IGF, TGF e EGF no Momento do diagnóstico, quando comparada ao momento que encerrou a mucosite, baseado no teste não paramétrico de Mann Whitney descrito na tabela 04.

DISCUSSÃO

A patogênese da mucosite oral é caracterizada por um complexo processo que envolve múltiplas etapas. A radioterapia e a quimioterapia atuam direta e indiretamente sobre os tecidos, provocando danos ao DNA das células da camada basal do epitélio e tecidos adjacentes. É relatada na literatura uma prevalência da mucosite oral em pacientes submetidos ao TCTH variando entre 80-100% [3,4,5]. No presente estudo 69,2% dos pacientes desenvolveram mucosite, provavelmente devido ao uso preventivo do LASER, pois a interação LASER/tecido pode ter promovido uma biomodulação antes da manifestação da MO [35]. Foi utilizado o protocolo da Instituição para prevenção da mucosite oral, utilizando uma densidade de energia de $70\text{J}/\text{cm}^2$ com comprimento de onda de 660nm. Ao desenvolver algum grau de mucosite, aumentou-se mais $35\text{J}/\text{cm}^2$, utilizando comprimento de onda de 830nm. Esta opção mostrou-se eficaz, uma vez que 65,4% dos pacientes não desenvolveram úlceras, incidência menor que observada nos estudos de Cowen *et al* que utilizaram $1,5\text{J}/\text{cm}^2$, Antunes *et al.* que utilizaram $4\text{J}/\text{cm}^2$, Jaguar *et al.* que utilizaram $2,5\text{J}/\text{cm}^2$, Migliorati *et al.* que utilizaram $2\text{J}/\text{cm}^2$ e Arora *et al.* que utilizaram $1,8\text{J}/\text{cm}^2$,

e [7,8,9,35,36,37]. Embora não haja um consenso em relação qual o comprimento de onda e densidade de energia mais eficaz do LASER, estes diversos estudos verificaram que reduz o tempo [9,37,38] e severidade da MO [38].

No estudo de Bezinelli *et al.* [5], verificou-se que a média de dias de mucosite é de 18,05 dias em pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas e de 10,84 dias quando há intervenção de um estomatologista. Neste estudo a média de dias foi de 6,2 dias, variando entre 1 e 14 dias. Esta diferença pode ser explicada pelo uso da terapia com LASER que tende a diminuir o número de dias com mucosite, concordando com os estudos de Kuhn, Jaguar [9,37].

A redução de dias de mucosite usando o laser pode ser explicada pela sua ação estimuladora na atividade celular, conduzindo à liberação de fatores de crescimento por macrófagos [39], proliferação de queratinócitos [40], aumento da população e desgranulação de mastócitos e angiogênese [41]. Podendo levar, desta forma, a uma aceleração no processo de cicatrização de feridas, que é devida em parte, à redução da inflamação aguda, resultando em uma entrada mais rápida no estágio proliferativo de reparo, quando o tecido de granulação é produzido [42].

Em relação aos fatores de Crescimento, estes são proteínas formadas por pequenos polipeptídeos, que possuem importante função na divisão, proliferação, migração, diferenciação celular e síntese proteica [43].

Hong *et al.* [19], em 2009, realizaram um estudo em pacientes submetidos a radioterapia com mucosite e que foram tratados com EGF em spray aplicado duas vezes por dia. Todos os pacientes apresentaram significativas melhoras na mucosite oral, sugerindo eficácia e segurança do medicamento. Henke *et al.* e Wu *et al.* [20,26] também realizaram estudos com fatores de crescimentos e obtiveram resultados positivos.

Neste estudo o número médio de sessões de LASER para o placebo foi 5,72 contra 4,89 de fator ativo, enquanto a duração média de dias de mucosite foi maior aos que usaram apenas o placebo (7,28 dias) contra 5,14 dias do terapêutico, o que demonstra ser uma alternativa terapêutica que age estimulando e acelerando a cicatrização. Segundo Lynch *et al.*, [44] os fatores de crescimento (EGF, IGF, TGF β e FGF) promovem a proliferação de células, sozinha ou em conjunto, através de ligação a receptores específicos da superfície celular, estando relacionados com a diferenciação celular, síntese de fibroblasto e colágeno, desempenhando deste forma, um papel importante na aceleração da cicatrização de feridas.

Em relação à concentração sorológica dos fatores não houve diferença estatisticamente significante entre o momento do diagnóstico da mucosite e após cessá-la; e o grau/presença da mucosite oral, que implicaria que os fatores de crescimentos não foram absorvidos sistemicamente, agindo de forma local. Resultado semelhante foi obtido por Wymenga *et al.* [45], no qual 11 pacientes utilizaram um enxaguante bucal, cujo componente ativo era

o recombinante homólogo de TGF-Beta 3 com intuito de prevenir mucosite oral em pacientes submetidos a quimioterapia. Foi coletado amostras sanguíneas dos pacientes antes da administração assim como após a administração do TGF β 3. Utilizando o ELISA só foi detectado TGF-Beta 3 no plasma de apenas um dos pacientes, sugestivo de produção endógena ou de uma reação-cruzada da técnica laboratorial, o que indicaria que os enxaguantes bucais TGF não são absorvidos sistematicamente.

É importante ressaltar que este é um estudo pioneiro na veiculação de fatores de crescimento em orabase. Estudos clínicos anteriores manipularam os fatores de crescimento via endovenosa, spray e enxaguante bucal [19, 25,26, 45, 46]. A opção por via endovenosa embora tenha mostrado bons resultados para o tratamento da mucosite, tem sido relacionado efeitos adversos que incluem: prurido, disgeusia, náusea e vômitos [47]. No presente estudo nenhum efeito colateral foi observado.

CONCLUSÃO

Conclui-se, baseado nos resultados, que a utilização tópica de fatores de crescimento associados à laserterapia constitui-se de uma alternativa para o tratamento da mucosite oral, sendo observado uma redução do número de dias de mucosite oral nos pacientes submetidos ao TCTH.

REFERÊNCIAS

1. Sonis ST (2004) Pathobiology of mucositis. *Semin Oncol Nurs* 20:11-15
2. Elting LS, Cooksley C, Chambers M, Cantor SB, Manzullo E, Rubenstein EB (2003) The burdens of cancer therapy. Clinical and economic outcomes of chemotherapy-induced mucositis. *Cancer* 98:1531-1539
3. Wardley AM, Jayson GC, Swindell R, Morgenstern GR, Chang J, Bloor R et al (2000) Prospective evaluation of oral mucositis in patients receiving myeloablative conditioning regimens and haemopoietic progenitor rescue. *Br J Haematol* 110: 292-299
4. Flores DA, Lisar RF (2010) Effectiveness of palifermin in the prevention of oral mucositis in patients with haematological cancers. *Farmacia Hospitalaria* 34: 163–169
5. Bezinelli LM, de Paula Eduardo F, da Graça Lopes RM, Biazevic MG, de Paula Eduardo C, Correa L et al (2013) Cost-effectiveness of the introduction of specialized oral care with laser therapy in hematopoietic stem cell transplantation. *Hematol Oncol*. doi: 10.1002/hon.2050
6. Brasil CMV, Serpa MS, França TRT, Castro, JFL (2012). Management of oral mucositis. *Arch Oncol*. v.19, p.57-61.
7. Cowen D, Tardieu C, Schubert M, Peterson D, Resbeut M, Faucher C et al. (1997) Low energy Helium-Neon laser in the prevention of oral mucositis in patients undergoing bone marrow transplant: results of a double blindrandomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 38:667-703
8. Antunes HS, Azevedo AM, Bouzas LFS, Adão CAE, Pinheiro CT, Mayte R et al (2007) Low-power laser in the prevention of induced oral mucositis in bone marrow transplantation patients: a randomized trial. *Blood* 109:2250– 2255
9. Jaguar GC, Prado JD, Nishimoto IN, Castro Jr DO, Perez DEC, Alves FA (2007) Low-energy laser for prevention of mucositis in hemetopoietic stem cell transplantation. *Oral Diseases* 13:538-543
10. Abramoff MMF, Lopes NNF, Almeida-Lopes L, Dib LL, Lee ML, Delboni A et al (2008) Low level laser therapy (685 nm) in the prevention and treatment of chemotherapy-induced oral mucositis in young patients. *Photomed Laser Surg* 26:393–400
11. Basford, J (1995) Low intensity laser therapy: still not an established clinical tool. *Lasers Surg Med* 16:331–342
12. Allendorf JDF, Bessler M, Huan J, Kayton ML, Laird D, Nowygrod R et al (1997) Heliumneon laser irradiation at fluences of 1,2, and 4J/cm2 failed to accelerate wound healing as assessed by both wound contracture rate and tensile strength. *Lasers Surg Med* 20:340–345

13. Karu T (2000) Mechanisms of low-power laser light action on cellular level. In: Simunovic Z (ed). *Lasers in Medicine and Dentistry*. Vitgraf, Rijeka, pp 97–125
14. Pesevska S, Nakova M, Pejicic A, Ivanovski K, Angelov N, Mindova, S (2006) Biostimulative Laser Therapy: base for favorized and accented results in Dentistry. *Acta Facultatis Medicae Naissensis* 23:75-78
15. Keefe DM, Schubert MM, Elting LS, Sonis ST, Epstein JB, Raber-Durlacher JE et al (2007) Updated Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Treatment of Mucositis. *Cancer* 109:820-831
16. Raber-Durlacher J, von Bültzingslöwen I, Logan RM, Bowen J, Al-Azri AR, Everaus H et al (2013) Systematic review of cytokines and growth factors for the management of oral mucositis in cancer patients. *Support Care Cancer* 21:343–355
17. Tuyet HL, Nguyen Quynh TT, Vo Hoang Minh H, Thi Bich DN, Do Dinh T, Le Tan D et al (2009) The efficacy and safety of epidermal growth factor in treatment of diabetic foot ulcers: the preliminary results. *Int Wound J* 6:159-166
18. Girdler NM, McGurk M, Aqual S, Prince M (1995) The effect of epidermal growth factor mouthwash on cytotoxic-induced oral ulceration. A phase I clinical trial. *Am J Clin Oncol* 18:403–410
19. Hong JP, Lee SW, Song SY, Ahn SD, Shin SS, Choi EK et al (2009) Recombinant human epidermal growth factor treatment of radiation-induced severe oral mucositis in patients with head and neck malignancies. *Eur J Cancer Care* 18:636–641
20. Wu HG, Song SY, Kim YS, Oh YT, Lee CG, Keum KC (2009) Therapeutic Effect of Recombinant Human Epidermal Growth Factor (RhEGF) on Mucositis in Patients Undergoing Radiotherapy, With or Without Chemotherapy, for Head And Neck Cancer. A Double-blind Placebo-controlled Prospective Phase 2 Multi-institutional.Clinical Trial. *Cancer* 115:3699-3708
21. Baired A, Walicke PA, Gospodarowicz D (1990) Fibroblast growth factors. *Br Med Bull* 45:438–452
22. Davidson JM, Broadly KN (1991) Manipulation of the wound healing process with basic fibroblast growth factor. *Ann NY Acad Sci* 638:306–315
23. Schuster MW, Shore TB, Harpel JG, Greenberg J, Jalilizeinali B, Possley S, et al (2008) Safety and tolerability of velafermin (CG53135-05) in patients receiving high-dose chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transplant. *Support Care Cancer* 16:477–483
24. Freytes CO, Ratanatharathorn V, Taylor C, Abboud C, Chesser N, Restrepo A et al (2004) Phase I/II randomized trial evaluating the safety and clinical effects of repifermin administered to reduce mucositis in patients undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Cancer Res* 10:8318–8324

25. Dörr W, Heider K, Spekl K (2005) Reduction of oral mucositis by palifermin (rHuKGF): dose-effect of rHuKGF. *Int J Radiat Biol* 81:557-65
26. Henke M, Alfonsi M, Foa P, Giralt J, Bardet E, Cerezo L. Palifermin decreases severe oral mucositis of patients undergoing postoperative radiochemotherapy for head and neck cancer: a randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2815-2820
27. Humbel RE (1990) Insulin-like growth factors I and II. *Eur J Biochem* 190:445–462
28. Beckert S, Haack S, Hierlemann H, Farrahi F, Mayer P, Königsrainer A et al (2007) Stimulation of steroid-suppressed cutaneous healing by repeated topical application of IGF-I: different mechanisms of action based upon the mode of IGF-I delivery. *J Surg Res* 139:217–221
29. Song QH, Klepeis VE, Nugent MA, Trinkaus-Randall V (2002) TGF-beta1 regulates TGF-beta1 and FGF-2 mRNA expression during fibroblast wound healing. *Mol Pathol.* 55:164-176
30. Sonis ST. (1994) Prevention of Chemotherapy-induced Ulcerative Mucositis by Transforming Growth Factor $\beta 3$. *Cancer Research* 54. 1135-1138.
31. Sousa AP, Valença Neto AAA, Marchionni AM, Ramos MA, Reis Júnior JA, Pereira MC ET et al (2011) Effect of LED phototherapy ($\lambda 700 \pm 20$ nm) on TGF- β expression during wound healing: an immunohistochemical study in a rodent model. *Photomed Laser Surg.* 29:605-611
32. Taylor VL, Goddard c, Leanna (2001) A milk growth factor extract reduces chemotherapeutic drug toxicity in epithelial cells in vitro cell. *Dev Biol Animal* 37:310-318
33. Bjordal JM, Bensadoun RJ, Tuner J, Frigo L, Gjerde K, Lopes-Martins RA. (2011). A systematic review with meta-analysis of the effect of low-level laser therapy (LLLT) in cancer therapy-induced oral mucositis. *Support Care Cancer.* 2011 Aug;19(8):1069-77.
34. Cunha CB, Eduardo FP, Zezell DM, Bezinelli LM, Shitara PP, Correa L (2012) Effect of irradiation with red and infrared laser in the treatment of oral mucositis: a pilot study with patients undergoing chemotherapy with 5-FU. *Lasers Med Sci* 27:1233-1240
35. Migliorati C, Massumoto C, Eduardo FP, Muller KP, Carrieri T, Haypek T et al (2001) Low-energy laser therapy in oral mucositis. *J Oral Laser Appl* 1:97-101
36. Arora H, Pai KM, Maiya A, Vidyasagar MS, Rajeev A (2008) Efficacy of He-Ne laser in the prevention and treatment of radiotherapy-induced oral mucositis in oral cancer patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod* 105:180-186

37. Kuhn A, Porto FA, Miraglia P, Brunetto AL. (2009) Low-level infrared laser therapy in chemotherapy-induced oral mucositis: A randomized placebocontrolled trial in children. *J Pediatr Hematol Oncol* 31:33-37.
38. Schubert MM, Eduardo FP, Guthrie KA, Franquin JC, Bensadoun RJJ, Migliorati CA et al (2007) A phase III randomized double-blind placebocontrolled clinical trial to determine the efficiency of low level laser therapy for the prevention of oral Le QT, Kim HE, Schneider CJ, Muraközy G, Skladowski K, Reinisch S et al. (2011) Palifermin reduces severe mucositis in definitive chemoradiotherapy of locally advanced head and neck cancer: a randomized, placebo-controlled study. *J Clin Oncol* 29:2808-2814
39. Young S, Bolton P, Dyson M. (1989) Macrophage responsiveness to light therapy. *Lasers Surg Med* 9:497-505.
40. Yu W, Naim JO, Lanzafame RJ (1994) The effects of laser irradiation on the release of bFGF from 3T3 fibroblasts. *Photochem Photobiol* 59:167–170
41. Trelles MS, Rigau J, Velez M (2000) LLLT In vivo effects on mast cells. In: Simunovic Z (ed). *Lasers in Medicine and Dentistry*. Vitagraf, Rijeka, 169-185.
42. Schindl A, Schindl M, Jurecka W (1999) Increased dermal angiogenesis after low-intensity laser therapy for a chronic ulcer determined by a video measuring system. *J Am Acad Dermatol* 40:481-484
43. Vermolena FJ, Van Baarena E, Adamb JA (2006) A simplified model for growth factor induced healing of wounds. *Math Comput Modelling* 44: 887–898
44. Lynch SE, Colvin RB, Antoniades HN (1989) Growth Factors in Wound Healing -Single and Synergistic Effects on Partial Thickness Porcine Skin Wounds. *J Clin Invest* 84:640-646
45. Wymenga MAN, Van Der Graaf WTA, Hofstra LS, Spijkervet FKL, Timens W, Timmer-Bosscha H et al (1999) Phase I Study of Transforming Growth Factor-b3 Mouthwashes for Prevention of Chemotherapy-induced Mucositis. *Clin Cancer Res* 5:1363–1368
46. Kim KI, Kim JW, Lee HJ, Kim BS, Bang SM, Kim I et al (2013) Recombinant human epidermal growth factor on oral mucositis induced by intensive chemotherapy with stem cell transplantation. *Am J Hematol* 88:107-12
47. Quynh-Thu Le, H E. Schneider CJ, Murakozy G, Skladowski K, Chen SRY, Hickey M et al (2011) Palifermin Reduces Severe Mucositis in Definitive Chemoradiotherapy of Locally Advanced Head and Neck Cancer: A Randomized, Placebo-Controlled Study. *J Clin Oncol* 29: 2809-2814

Tabela 01 – Distribuição do diagnóstico de doença, tratamento oncológico, quimioterápico e tipo de transplante.

Variável	N	%
Diagnóstico da Doença		
Mieloma Múltiplo	27	52
Anemia Aplástica Severa	6	11,5
Leucemia Linfóide Aguda	5	9,6
Linfoma de Hodgkin	4	7,7
Leucemia Mielóide Aguda	4	7,7
Linfoma Não-Hodgkin	2	3,8
Hemoglobinúria Paroxística Noturna	2	3,8
Síndrome Mielodisplásica	1	1,9
Leucemia Mielóide Crônica	1	1,9
Tipo de Tratamento Oncológico		
Quimioterapia	47	90,3
Quimioterapia + TBI	5	9,6
Quimioterapia Total (Drogas combinadas)		
Ciclofosfamida	24	46,2
Melfalano	20	38,5
Bussulfano	15	28,8
Fludarabina	7	11,5
Carmustina	3	5,8
Bortezomibe	2	3,8
Tipo de Transplante		
Autólogo	31	59,6
Alogênico	21	40,4

Tabela 02 – Distribuição do número de pacientes com mucosite, o grau de mucosite oral e tipo de pomada usada

Variável	N	%
Mucosite (N=52)		
Não	16	30,8
Sim	36	69,2
Grau de mucosite oral (n=36)		
I	18	50,0
II	15	41,7
III	3	8,3
IV	0	0
Tipo de pomada		
Placebo	18	50,0
Ativo	18	50,0

Figura 01 – Boxplot para número de dias da mucosite oral segundo o grau máximo de mucosite

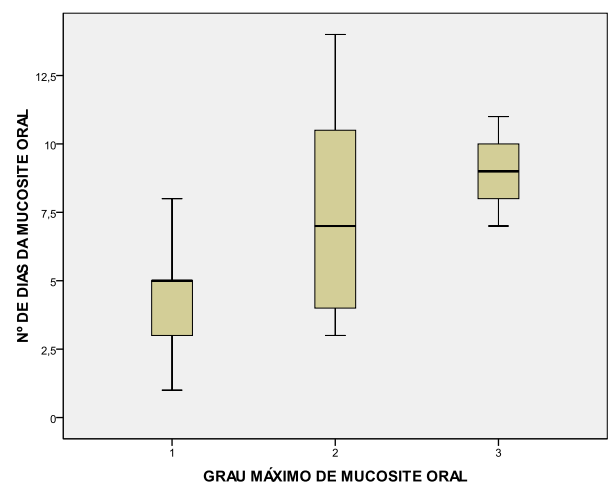


Figura 02 – Boxplot para número de dias da mucosite oral segundo o tipo de fatores de crescimento

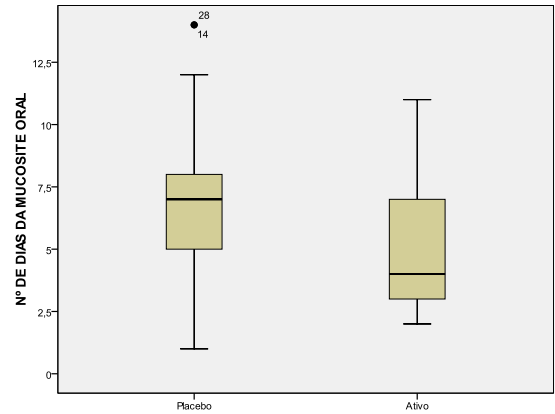


Tabela 03-Correlação de Spearman entre o tipo de pomada, número de sessões de laser no tratamento e duração de dias da mucosite oral

Tipo de Pomada	Número de sessões de laser no tratamento	Duração de Dias da Mucosite Oral	Coefficiente de Correlação de Spearman	de parcial de
<i>Placebo</i>	5,72	7,28	0,773*	*p<0,001
<i>Ativo/Fatores de Crescimento</i>	4,89	5,11	0,779*	

Tabela 04 – Teste de Mann Whitney das Variáveis FGF, IGF, TGF e EGF no momento da mucosite e após cessá-la segundo tipo de pomada

VARIÁVEIS	Teste de U Mann Whitney							
	No momento da mucosite				Após cessar a mucosite			
	FGF	IGF	TGF	EGF	FGF	IGF	TGF	EGF
Tipo de pomada: Ativa (Fatores de Crescimento) e Placebo	0,920	0,432	0,563	0,968	0,551	0,211	0,181	0,304



Management of oral mucositis

Catarina da Mota Vasconcelos Brasil, Marianna Sampaio Serpa,
Talita Ribeiro Tendorio de França-Jurema Freire Lisboa de Castro

SUMMARY

Oral mucositis is one of the most common oral complications of cancer treatment. Studies have shown some interventions that reduce the severity of this condition, but there is not a specific treatment proved that really prevents or treats mucositis efficiently. The aim of this paper was to provide a literature review for better understanding of the management of oral mucositis. Pubmed and Scopus were used in order to identify research articles published between 2005 and 2012 in English language. A search term combination that included stomatitis, mucositis, lasers, complementary therapies, amino acids, antioxidants, vitamins, minerals, plant extracts, and cryotherapy was conducted. A large number of therapeutic strategies to prevent and treat oral mucositis have been shown in studies and growth factors, including palifermin, appear as one of the most innovative drugs used in the management of oral mucositis. Understanding the physiopathological basis of mucositis can lead to the development of target drugs' therapies. In addition, clinical trials should be conducted in order to determine an efficient protocol of treatment.

Key words: Stomatitis; Antineoplastic Agents; Radiotherapy

Arch Oncol 2012;19(1):25-42.

UDC: 616.408.615.408.615.385.1.046.1

DOI: 10.1007/s12091-012-0461-1

Department of Clinical and Preventive

Dentistry, Oral Pathology Unit, Federal

University of Pernambuco, Av. Prof.

Wladimir Magalhães, 1228,

Recife, PE, Brazil.

Correspondence to:

Catarina da Mota Vasconcelos Brasil,

Universidade Federal de Pernambuco-

Departamento de Clínica e Odontologia

Preventiva, Av. de Psicologia, 1228, Av.

Prof. Wladimir Magalhães, 1228,

Recife, PE, Brazil.

catarina.mota@ufpe.br

Received:

Manuscript accepted:

Accepted:

© 2012, Oncology Institute

of Ajaccio, Geneva, Geneva

INTRODUCTION

Oral mucositis (OM) is defined as an inflammation of oral mucosa resulting from cancer therapy typically manifesting as atrophy, swelling, erythema and ulceration. The condition may be exacerbated by local factors, such as trauma from teeth, or microbial colonization (1, 2).

A biological model for chemotherapy- and radiotherapy-induced oral mucositis proposed by Sonis et al. in 2009, appeared to be generally applicable to alimentary mucositis. What was once thought to be a simple reflection of direct epithelial damage induced by cytotoxic therapy is now considered to be a complex phenomenon that also affects the connective tissue. The model includes events that have been described in five overlapping stages: initiation, upregulation, message generation, ulceration, and healing. All these events lead to pain and, in neutropenic patients, bacteria may invade the systemic circulation causing bacteremia and sepsis. Following cessation of the injurious therapy, healing occurs and the epithelium appears normal again (3).

Chemotherapy-induced mucositis usually develops within 4–7 days after initiation of treatment and peaks within 2 weeks. Radiation-induced mucositis typically begins at cumulative doses of about 15 Gy (after about 10 days) and typically reaches full severity at 30 Gy, and lasts for weeks or even months (1). Patients with oral mucositis are significantly more likely to experience severe pain and weight loss. Severity of oral mucositis has been correlated with compromised swallowing function in patients, resulting in the requirement for feeding via a gastrostomy tube (4, 5).

Development of mucositis depends on a number of factors, related to both therapy and patient characteristics. Some potential risk factors have been identified, while others remain obscure. Treatment variables that may affect the prevalence and the severity of mucositis include the type, dose, and schedule of systemic cytotoxic medications, radiation dose and field, and concomitant use of chemotherapy and radiation. Among patients associated factors, such as age, body mass index, gender, alterations in salivary production, poor oral health and mucosal trauma

have been reported to influence mucositis. In addition, the tumor itself as well as co-morbidities (e.g. diabetes mellitus, Addison's disease, impaired renal function) may have an impact on mucositis risk. Oral microflora is considered to play a secondary role in the pathogenesis of mucositis. Bacteria colonizing ulcerations may contribute to increased severity and delayed healing (6).

There are no FDA-approved molecularly targeted drugs to prevent gastrointestinal mucositis. Oral and gastrointestinal mucositis therefore continues to represent an important unmet clinical need (5). Few interventions are of proven efficacy in reducing the severity or duration of mucositis, and there are no universally accepted treatment protocols. Many agents and strategies have been used, such as basic oral care, oral rinses, analgesics, cryotherapy, local anesthetics, growth factors and cytokines, biologic mucosal protectants, and anti-inflammatory agents among others. To date, there is not a single treatment capable of preventing or treating mucositis in an efficient way. The purpose of this paper was to present a literature review about the management of oral mucositis.

MATERIALS AND METHODS

A medical librarian conducted an initial Medline search to identify research articles published between 2005 and 2012 in English language. Pubmed and Scopus were used (www.pubmed.com and www.scopus.com). A search term combination that included stomatitis, mucositis, lasers, complementary therapies, amino acids, antioxidants, vitamins, minerals, plant extracts, and cryotherapy was conducted.

REVIEW

Strategies for reducing oral mucositis in order to address this serious impediment to cure have been proven to be inadequate, leaving a very important unmet medical need. The treatments for oral mucositis include: laser therapy, cryotherapy, growth factors, analgesics, mouth washes, administration of antimicrobial agents, vitamins and anti-inflammatory agents.

APÊNDICE E

Journal Name: <http://mc.manuscriptcentral.com/photomedicine>

LOW LEVEL LASER IN PREVENTING AND TREATMENT OF ORAL MUCOSITIS IN PEDIATRIC PATIENTS SUFFERING FROM ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA.

Journal:	<i>Photomedicine and Laser Surgery</i>
Manuscript ID:	PHO-2012-3327.R3
Manuscript Type:	Original Research
Date Submitted by the Author:	25-Apr-2013
Complete List of Authors:	Castro, Jurema; Federal University of Pernambuco, Postgraduate Program in Dentistry, Oral Pathology Unit ABREU, ELIZABETH; Federal University of Pernambuco, Postgraduate Program in Dentistry, Oral Pathology Unit CORREIA, ANDREZA; Federal University of Pernambuco, Postgraduate Program in Dentistry, Oral Pathology Unit Brasil, Catarina; Federal University of Pernambuco, Postgraduate Program in Dentistry, Oral Pathology Unit Cruz Perez, Danyel; Federal University of Pernambuco, Postgraduate Program in Dentistry, Oral Pathology Unit PEDROSA, FRANCISCO; Professor Fernando Figueira Integrated Medical Institute, Pediatric Oncology Department
Keyword:	Oral Medicine, Lasers in Dentistry, Low-Level Laser Therapy, Mucositis, Oncology

SCHOLARONE™
Manuscripts

ANEXO A



DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto de Pesquisa nº 71/2010 (CAAE: 0050.0.447.447-10) intitulado: "AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DO USO TÓPICO DE FATORES DE CRESCIMENTO EM PACIENTES COM MUCOSITE ORAL RADIO E QUIMIO-INDUZIDO", apresentado pelo pesquisador responsável **Catarina da Mota Vasconcelos Brasil**, foi aprovado nesta data, pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da Sociedade Pernambucana de Combate ao Câncer / Hospital de Câncer de Pernambuco.

Os autores deverão remeter cópia do artigo publicado para arquivo na Biblioteca da SPCC / HCP e terão que mencionar nas publicações a Instituição onde o trabalho foi realizado.

Recife, 21 de dezembro de 2010.

Dr. Glauber Leitão
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa
Sociedade Pernambucana de Combate ao Câncer
Hospital de Câncer de Pernambuco