

JUNIA CAROLINA LINHARES FERRARI

**UTILIZAÇÃO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE (LILT)
PARA TRATAMENTO DA MUCOSITE INDUZIDA EM
HAMSTERS. COMPARAÇÃO CLÍNICA E
HISTOPATOLÓGICA ENTRE PARÂMETROS DE
IRRADIAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Odontológicas – Área de
Odontopediatria, da Faculdade de
Odontologia de Araraquara – UNESP,
para obtenção do título de Doutor.

Orientador:

Prof. Dr. Fabio Cesar Braga de Abreu-e-Lima

Araraquara

2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA

Junia Carolina Linhares Ferrari

**UTILIZAÇÃO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE (LILT)
PARA TRATAMENTO DA MUCOSITE INDUZIDA EM
HAMSTERS. COMPARAÇÃO CLÍNICA E
HISTOPATOLÓGICA ENTRE PARÂMETROS DE
IRRADIAÇÃO**

COMISSÃO JULGADORA
TESE PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR

Presidente: Prof. Dr. Fabio Cesar Braga de Abreu-e-Lima

2º Examinador: Rosane Lizarelli

3º Examinador: Marcelo Chaves Donizeti

4º Examinador: Cyneu Pansani

5º Examinador: Elaine Maria Sgavioli Massucato Massucato

Araraquara, 23 de março de 2009.

Dados Curriculares

Junia Carolina Linhares Ferrari

NASCIMENTO	16 de agosto de 1979 – São Paulo/SP
FILIAÇÃO	Sidney Ferrari dos Santos Carmen Linhares dos Santos
1997/2001	Curso de Graduação em Odontologia Faculdade de Odontologia de Araraquara– UNESP
2002	Estágio de Atualização na Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP
2003/2004	Curso de Pós-graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração Odontopediatria, Nível Mestrado, Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP
2005/2008	Curso de Pós-graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração Odontopediatria, Nível Doutorado, Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Dedicatória

A minha família, **Carmen, Sidney, Fabio e Alexandre**

Obrigada pelo incentivo, torcida e pelos esforços feitos para que eu chegasse até aqui.

Amo muito vocês!

A Deus

Prov 25:2 “A glória de Deus é encobrir as coisas, mas a glória dos homens é esquadrihá-las.”

I Samuel 7:12 b “ Até aqui em Tudo nos ajudou o Senhor”

Agradecimentos especiais

Ao Prof. Dr. Fabio Cesar Braga de Abreu-e-Lima

Ao querido orientador, obrigada por me acompanhar desde o início da minha vida acadêmica, com sua alegria, amizade e apoio em todos os momentos.

À Profa. Dra. Lizetti Ramalho

Seu apoio e contribuição pessoal e científica foram fundamentais para a conclusão desse trabalho. Muito obrigada!

À Gabriela e Rafael

Agradeço por me receberem no laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade de Brasília. Muito obrigada pela ajuda e paciência durante a realização da parte experimental desse trabalho

Agradecimentos

Aos Professores da Disciplina de Odontopediatria **Ângela Cristina Cilense Zuanon, Cyneu Aguiar Pansani, Elisa Maria Aparecida Giro, Josimeri Hebling, Lourdes dos Santos-Pinto, Rita de Cássia Loiola Cordeiro**, pelos ensinamentos e pela convivência sempre agradável.

Às Professoras do Departamento de Odontologia da Universidade de Brasília, **Erica Negrini Lia, Simone Otero, Soraya Leal e Heliana Mestrinho**, que carinhosamente me acolheram e me deram a oportunidade de colocar em prática a teoria adquirida durante os anos da minha Pós-Graduação

À **Profª Dra. Lourdes Aparecida dos Santos-Pinto (Tuka)** pelos ensinamentos científicos, profissionais e pessoais e pelo apoio em momento difíceis do meu doutorado

À **Profª Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato** pelo interesse e disponibilidade, sempre dedicada e disposta a ajudar.

À minha amiga **Mariane Emi Sanabe**, pela torcida, apoio, positividade e grande amizade.

À **Nancy Tomoko Sacono e Camila Fávero**, amigas queridas e dedicadas

Ao amigo **Hermes Pretel**, pelo apoio em todas as fases do meu doutorado.

Aos amigos do curso de doutorado, **Jonas, Luciana, Érika, Murilo, Andreza e Fernanda**, pelos anos de estudo e crescimento compartilhados

Às amigas **Michele, Carmen e Indri** e todas as amigas do Curso de Pós-graduação

Ao **Pedro Simões** pela participação na realização dos procedimentos histopatológicos, sempre bem-humorado

A todos os funcionários do Departamento de Clínica Infantil, da seção de Pós-graduação e da Biblioteca.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, nas pessoas da Ex-Diretora Prof^a Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, do Ex-Vice-Diretor e atual Diretor Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla e da atual Vice-Diretora Andréia Affonso Barretto Montandon.

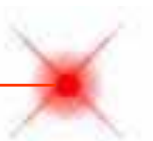
À DMC Equipamentos, pelo suporte técnico, incentivo e disponibilidade

Sumário

Resumo	10
Abstract	12
1 Introdução.....	14
2 Proposição.....	20
3 Revisão da literatura.....	22
3.1 Desenvolvimento da mucosite.....	23
3.2 Utilização do laser de baixa intensidade para redução da incidência e da severidade da mucosite.....	29
3.3 Mecanismo de ação do laser.....	50
4 Material e método	72
4.1 Procedimentos operatórios.....	73
4.2 Avaliação clínica e histopatológica da mucosite	80
4.3 Resumo dos procedimentos	83
4.4 Análise estatística dos resultados	83
5 Resultado	85
5.1 Avaliação clínica da mucosite.....	86

5.2	Avaliação histopatológica da mucosite.....	122
6	Discussão	136
7	Conclusão.....	147
8	Referências	149
	Anexo.....	164

Resumo

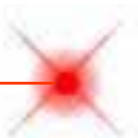


Ferrari JCL. Utilização do laser de baixa intensidade (LILT) para tratamento da mucosite induzida em hamsters. Comparação clínica e histopatológica entre parâmetros de irradiação [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

A cavidade oral é alvo freqüente dos efeitos tóxicos dos agentes antineoplásicos por apresentar tecidos com rápida divisão celular, comparável à dos tumores malignos. Uma das complicações orais mais freqüentes da quimioterapia é a mucosite, uma alteração de caráter inflamatório para a qual ainda não existe tratamento definido. Considerando-se a relevância clínica da mucosite, é importante encontrar meios para tratá-la. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do LILT na redução da incidência e da severidade da mucosite induzida em hamsters. O quimioterápico 5-FU foi aplicado em 60 animais (distribuídos em 5 grupos) nos dias 0 e 2 do experimento, nas doses de 90 e 60 mL/Kg de peso, respectivamente. Para simular o efeito de uma irritação crônica, as mucosas jugais dos animais foram escarificadas nos dias 3 e 4. Aplicou-se o LILT em 3 pontos da mucosa jugal direita dos animais dos Grupos I, II, III e IV em dias alternados. Os animais do Grupo V não receberam tratamento. Nos dias 8 e 12 do experimento, as mucosas de 6 animais por grupo foram removidas para avaliação histopatológica. A partir de fotografias tiradas diariamente, a mucosite foi classificada clinicamente. O teste de Mann-Whitney demonstrou haver diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre os grupos tratados com laser e o grupo não tratado quando se comparou, clínica e histopatologicamente, a intensidade da mucosite induzida. Concluiu-se que a aplicação do LILT, nos parâmetros determinados para este estudo, promoveu a redução da severidade da mucosite oral e acelerou a cura das lesões, parecendo haver maior melhora nos animais que receberam 12 e 72 J/cm².

Palavras-chave: Terapia a laser de baixa intensidade; mucosa bucal; fluoruracila; hamsters; neoplasias, laser terapêutico.

Abstract

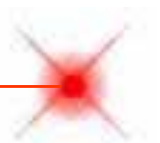


Ferrari JCL. Low intensity laser therapy (LILT) for mucositis induced in hamsters: clinical and histopatological comparisson using diferents irradiation protocols [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2009.

Toxic and dose-limiting effects of antineoplastic agents in oral cavity are frequently observed during cancer therapy. The available therapies are not able to destroy tumor cells without causing damage to the rapid dividing cells in normal tissues like the epithelial cells in the oral mucosa. Mucositis is the most debilitating side effect, for which there is no established treatment. Considering the clinical significance of mucositis, it is important to find ways to treat this condition. The present study was conducted to evaluate the LILT effects on reduction of chemotherapy-induced mucositis in hamsters. Mucositis was induced in 60 animals with intraperitoneal injections of 5-fluorouracil (5-FU) on days 0 and 2, associated with cheek pouches scarification on days 3 and 4. Animals were divided in 5 groups and groups I, II, III, IV and V received laser irradiation at three points in right cheek pouch, at alternate days. Group V received no treatment. The cheek pouches of 6 animals in each group were dissected for histopathological examination on days 4 and 12. Daily photographs were taken and mucositis was clinically scored. The nonparametric test of Mann-Whitney showed statistical difference between treated and non treated group ($p < 0.05$). It was concluded that the LILT protocols established for this study reduced the severity of oral mucositis and accelerated the healing process, with better results when 12 and 72 J/cm² were used.

Keywords: Laser therapy; oral mucosa; fluorouracil; hamsters; neoplasms.

Introdução



1 Introdução

A cavidade oral é alvo freqüente dos efeitos tóxicos dos agentes antineoplásicos por apresentar tecidos com rápida divisão celular, comparável à dos tumores malignos. As drogas usadas não apresentam ação específica sobre as células cancerosas e, por não as diferenciar das células normais, em rápida divisão, são lesivas a ambas (Guggenheimer et al.⁴², 1997; McGuire⁶⁴, 2002).

Uma das complicações orais mais freqüentes e problemáticas da quimioterapia e da radioterapia de cabeça e pescoço é a mucosite, uma alteração de caráter inflamatório que provoca adelgaçamento e ulceração da mucosa oral (Spijkervet, Sonis¹⁰⁰, 1998; Epstein et al.³⁴, 2002).

Clinicamente, a mucosite é caracterizada por lesões eritematosas e/ou ulceradas, que podem ser detectadas poucos dias após o início da quimio ou radioterapia e recuperam-se espontaneamente em duas ou três semanas, se não houver complicações infecciosas (Abramoff et al.¹, 2008, Dodd²⁵ et al., 1996; Epstein, Schubert³⁴, 1999; Rutkauskas, Davis⁸⁰, 1993), complicações estas que podem facilitar o desenvolvimento de septcemias.

Qualquer região da boca pode ser afetada, embora haja maior incidência nas superfícies não-queratinizadas como as mucosas

jugal e labial, o assoalho da boca, o ventre da língua e o palato mole (Epstein, Schubert³⁴, 1999; Parulekar et al.⁷¹, 1998; Woo et al.¹¹⁰, 1993).

Durante o período em que se manifesta, a mucosite provoca desconforto, dor severa e dificulta a manutenção da higiene oral, além de restringir a ingestão de líquidos, de alimentos e afetar a comunicação e o sono (Cheng¹⁶, 2001; Donnely et al.²⁹, 2003).

Pacientes que desenvolvem mucosite podem, freqüentemente, necessitar de cuidados especiais como nutrição via parenteral, analgesia com narcóticos, modificação do protocolo de tratamento com alteração da dose ou até interrupção da quimioterapia, comprometendo assim o controle do câncer (Sonis⁸⁷, 1998; Spijkervet, Sonis¹⁰⁰, 1998).

A freqüência e a severidade dessa condição debilitante dependem de diversos fatores associados ao paciente e à terapia antineoplásica. Existem variáveis importantes que aumentam a susceptibilidade do paciente a esta alteração, como o tipo de neoplasia, a droga usada, sua dose e o regime quimioterápico, a extensão da mielossupressão, além da idade do paciente, seu estado nutricional, os cuidados com a higiene oral e os traumas da mucosa (Brown et al.¹⁴, 2009; Epstein, Schubert³⁴, 1999; Knox et al.⁵⁴, 2000; Duncan, Grant³⁰, 2003).

O tratamento da mucosite já estabelecida é paliativo e inclui analgésicos tópicos e sistêmicos, suporte nutricional e cuidados com a higiene oral para evitar infecções secundárias (Cheng et al.¹⁶, 2002; Sonis et al.⁹², 1995). Não existem terapias padronizadas e bem definidas, não havendo consenso sobre a melhor maneira de lidar com essa condição (Clarkson et al.²⁰, 2000; Donnelly et al.²⁹, 2003; Morvan et al.⁶⁷, 2004; Kwong⁵⁸, 2004; Cheng et al.¹⁵, 2004; Spijkervet, Sonis¹⁰⁰, 1998). Este fato pode estar relacionado à complexidade que caracteriza o desenvolvimento da mucosite, às diversas mudanças que ocorrem nos tecidos epitelial e conjuntivo e ao estado hematológico do indivíduo.

Os fatores que desencadeiam o desenvolvimento da mucosite ainda estão sendo estudados (Sonis et al.⁹⁷, 2004; Lalla et. al.⁶⁰, 2008). Sonis⁸⁷, em 1998, definiu a mucosite como um processo biológico complexo, caracterizado por uma série de eventos mediados por citocinas, pelo efeito direto do agente quimioterápico no epitélio, pela microbiota oral e pelas condições da medula óssea do paciente.

O entendimento da fisiopatologia da mucosite e de seus aspectos moleculares vem promovendo a investigação de diversos agentes com ação específica no epitélio da mucosa oral.

A utilização do laser de baixa intensidade para o tratamento da mucosite vem demonstrando resultados promissores e embora seja uma opção terapêutica ainda controversa, existem evidências sobre seu benefício na redução da severidade das lesões que

acometem a cavidade oral durante a quimioterapia (Barasch et al.⁹, 1995; Bensadoun et al.¹², 1999; Cowen et al.²³, 1997; Eduardo et al.³², 2004; Van Hamme et al.¹⁰⁸, 2003; Migliorati et al.⁶⁶, 2001; Pourreau-Schneider et al.⁷⁶, 1992).

Segundo Eduardo et al.³¹ (2002), o uso do LILT promove a bioestimulação dos tecidos vivos, produzindo uma resposta fisiológica caracterizada pelo aumento da atividade funcional das células. A capacidade de modular a resposta celular ante uma situação de inflamação instalada resulta em efeitos clínicos importantes, como aceleração da cicatrização e supressão da dor (Abt², 1995; Bensadoun, Ciais¹¹, 2002).

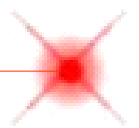
O mecanismo de ação dessa modalidade terapêutica ainda não está completamente elucidado e parece estar relacionado à ativação da produção de energia pelas mitocôndrias (ATP), sendo influenciado por algumas variáveis como o tipo de tecido alvo, o comprimento de onda do aparelho e a dose utilizada (Karu⁵⁰, 1989; Harris⁴⁴, 1991; Karu et al.⁵², 1995; Conlan et al.²¹, 1996; Karu⁵¹, 1999; Karu⁵², 2003).

Os trabalhos ainda são poucos e trazem uma grande variação quanto aos parâmetros testados, aos métodos de avaliação da mucosite, além disso, outros fatores como a ausência de protocolos padronizados e problemas no delineamento experimental tornam difícil a comparação de resultados. Entre tanto há consenso de que esse

tratamento alternativo apresenta resultados positivos e mostra-se seguro e eficiente no manejo da mucosite bucal.⁶⁶

O pequeno número de estudos avaliando o papel do LILT na redução da incidência e da severidade da mucosite oral e o fato de que os mecanismos de ação e os parâmetros ideais de irradiação com laser ainda não estão completamente esclarecidos estimulam a realização de pesquisas para a investigação do efeito desta modalidade terapêutica no reparo da mucosite oral. Diante disso, a realização de estudos em animais de laboratório previamente à de estudos em humanos busca esclarecer o papel da laserterapia no processo de desenvolvimento dessa alteração oral tão debilitante.

Proposição



2 Proposição

O objetivo deste trabalho foi determinar se a utilização do laser de diodo semiconductor operando em baixa intensidade e emitindo no comprimento de onda vermelho é eficiente para reduzir a intensidade da mucosite induzida por tratamento quimioterápico em hamsters e comparar diferentes parâmetros de irradiação.

Revisão da literatura



3 Revisão da literatura

3.1 Desenvolvimento da mucosite

Sonis et al.⁹¹, em 1990, descreveram um modelo animal para indução de mucosite, reproduzindo as condições encontradas em humanos. Foram usados 20 hamsters Sírios Dourados com peso entre 91 e 100 g e 2 meses de idade, sendo aplicada injeção intraperitoneal de 5-Fluoruracila (5-FU) na dose de 60 mg/Kg nos dias 0, 5 e 10. Tal dose e frequência de aplicação demonstraram produzir mucosite com mínima morbidade e mortalidade em estudo piloto prévio. Para reproduzir o efeito de uma irritação crônica, a mucosa jugal foi arranhada superficialmente com uma agulha durante um, dois ou três dias. Um grupo de 4 animais serviu como controle, recebendo apenas irritação superficial da mucosa, feita durante três dias. Os animais foram pesados e observados diariamente, sendo a mucosa jugal evertida e fotografada, após anestesia. Dois animais do grupo que recebeu 5-FU foram sacrificados nos dias 0, 2, 5, 10, 12, 14, 16, realizando-se coleta de sangue e biópsia excisional da mucosa jugal. Notou-se eritema 3 dias após a exposição inicial ao 5-FU. No dia 5 (segunda injeção de 5-FU), observou-se mucosa eritematosa, com áreas localizadas de abscesso. Um animal apresentou ulceração franca. No dia 9 notou-se progressão da mucosite caracterizada por grandes áreas de perda de continuidade epitelial e necrose superficial. Os animais do grupo controle apresentaram apenas irritação

da mucosa e formação de abscessos havendo cura rápida dentro de 48 horas. Foi feita contagem de células brancas e observou-se pico de mielossupressão por volta do dia 10, caracterizada por profunda leucopenia quando comparada com a contagem inicial de células brancas. Microscopicamente, observou-se epitélio paraqueratótico e áreas de degeneração hidrópica entre os dias 2 e 5 após as injeções iniciais de 5-FU. Os capilares apresentaram-se dilatados, contendo eritrócitos e infiltrado de linfócitos e macrófagos. Foi encontrada diferença significativa nas amostras dos hamsters sacrificados nos estágios mais tardios do experimento. No dia 14 puderam-se observar áreas de destruição epitelial caracterizadas por ulceração franca. Também foi observada presença de infecção caracterizada por colônias de microrganismos e epitélio necrótico separado do conjuntivo subjacente.

Para verificar a relação entre a alta taxa de renovação do epitélio oral e a susceptibilidade da mucosa aos efeitos tóxicos da quimioterapia, Sonis et al.⁹⁰, em 1992, utilizaram o fator de crescimento epidermal, uma citocina capaz de estimular a proliferação de células epiteliais. Mucosite foi induzida em 60 hamsters por meio de injeção 5-FU na dose de 60 mg/kg de peso nos dias 0 e 5 e irritação da mucosa jugal no dia 7. O fator de crescimento epidermal foi aplicado topicamente no lado esquerdo através de um dispositivo de bombeamento implantado na mucosa jugal dos animais para dispensar doses uniformes por períodos prolongados. Observou-se mucosite mais severa nos animais que

receberam a citocina em comparação aqueles que receberam placebo e houve relação entre a severidade da mucosite e a perda de peso. Os autores concluíram que a taxa de renovação celular é um fator determinante para a susceptibilidade à mucosite e a presença do fator de crescimento epidermal modifica a frequência e o curso da mucosite. Os autores também sugeriram que um tratamento preventivo efetivo seria provocar a inibição ou redução da taxa de proliferação epitelial.

Sonis et al.⁹⁴ (1997) examinaram o efeito da aplicação tópica de fatores de transformação do crescimento- $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) previamente à indução de mucosite em hamsters. Aplicou-se 5-FU (60 a 80 mg/Kg) intraperitonealmente nos dias 0 e 2 e arranhou-se a mucosa jugal com uma agulha descartável no dia 4 do experimento. Os TGF- $\beta 3$ são reguladores negativos da inflamação e agem inibindo o crescimento de células epiteliais e hematopoiéticas. Os autores observaram redução da proliferação das células basais através de exame imunohistoquímico com PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*) e exame histológico. Fotografias foram tiradas diariamente a partir do dia 5 até o dia 16 e classificadas com uma escala de 0 a 10 para determinação do grau da mucosite. Os animais tratados com TGF- $\beta 3$ apresentaram redução da severidade da mucosite, menor perda de peso e aumento da sobrevida. Esses achados foram relacionados à redução da proliferação das células basais.

Sonis⁸⁸, em 1998, elaborou uma hipótese para explicar os mecanismos pelos quais a mucosite se desenvolve e o seu processo de reparo, baseando-se em modelos experimentais em animais e dados clínicos. Segundo sua hipótese, a mucosite ocorre em quatro fases distintas. Inicialmente o agente antineoplásico provoca a liberação de citocinas inflamatórias pelo epitélio, como o fator de necrose tumoral (TNF- α) e as interleucinas 1 e 6 (IL-1, IL-6). O TNF- α é capaz de provocar danos teciduais, iniciando e acelerando o processo de mucosite. A IL-1 e IL-6 participam efetivamente da resposta inflamatória, que se inicia por meio do aumento da vascularização local e conseqüente elevação da concentração de agentes citotóxicos na mucosa. Durante a segunda fase, ocorre redução no processo de renovação das camadas do epitélio causada pela ação não específica dos agentes quimioterápicos sobre as células do epitélio oral em rápida divisão. Uma vez que o tecido se torna atrófico e sua renovação é inibida, traumas funcionais levam ao surgimento de ulcerações. Áreas com eritema podem ser vistas freqüentemente e representam uma combinação da vascularização aumentada com a redução da espessura do epitélio. Essa fase inicia-se em 4 ou 5 dias após a administração do medicamento. A terceira fase é bastante sintomática e tem grande impacto no bem-estar do paciente. Surge aproximadamente uma semana após a administração do agente quimioterápico e caracteriza-se por áreas erosivas que podem ser cobertas por uma pseudomembrana fibrinosa e colonizadas por

microrganismos. A fase final da mucosite está associada ao reparo tecidual, caracterizada pela proliferação e diferenciação celular, normalização da contagem de células brancas e restabelecimento da microbiota oral, que ocorre espontaneamente em 2 ou 3 semanas após o término da quimioterapia.

Segundo Spijkervet, Sonis¹⁰⁰ (1998), mucosite oral é uma alteração inflamatória da mucosa, sendo decorrente de quimioterapia e radioterapia de cabeça e pescoço. As ulcerações induzidas pelo efeito citotóxico dos agentes quimioterápicos ou pela radioterapia provocam dor, dificultam a nutrição do paciente e facilitam o desenvolvimento de infecções secundárias e septicemia, principalmente nos pacientes com neutropenia. A frequência e a severidade dessa condição irão depender de diversos fatores como o tipo de terapia antineoplásica, diagnóstico do paciente, idade e cuidados com higiene oral. Os autores citam alguns agentes utilizados para amenizar as alterações orais como antimicrobianos, citocinas, vitaminas, mediadores da inflamação, enxaguatórios orais, crioterapia e laserterapia, porém, ressaltam que não existem tratamentos padronizados e bem definidos para a mucosite e algumas intervenções terapêuticas não apresentam resultados consistentes, sendo que este fato pode estar relacionado à complexidade biológica que caracteriza o desenvolvimento da mucosite, incluindo diversas mudanças que ocorrem no tecido epitelial e conjuntivo e a relação presente com o estado hematológico do hospedeiro. Os autores

citam ainda estudos experimentais com o fator TGF- β 3, agente que reduz temporariamente a taxa de proliferação das células basais da mucosa oral, podendo representar um tratamento preventivo efetivo e seguro para pacientes que são submetidos à quimioterapia.

Em 2001, Squier, Kremer¹⁰² fizeram considerações importantes sobre a biologia da cavidade oral e sua susceptibilidade aos agentes quimioterápicos e à radioterapia. Os autores definem o epitélio oral como uma barreira protetora aos tecidos subjacentes contra traumas mecânicos, materiais tóxicos e microrganismos. O epitélio é constantemente substituído e o tempo de substituição para todas as células varia entre 4 e 34 dias. A taxa de divisão celular é maior nas superfícies orais não queratinizadas quando comparada às superfícies queratinizadas e essas diferenças têm implicações importantes no processo de reparo dos tecidos, principalmente quando se consideram os efeitos da terapia antineoplásica na cavidade oral. A quimioterapia e a radioterapia representam um desafio à integridade da mucosa oral, uma vez que limitam a proliferação das células epiteliais e assim, o epitélio torna-se fino e ulcerado. As lesões que se desenvolvem principalmente na língua, palato mole e mucosa jugal, provocam dor e disfagia, comprometendo a qualidade de vida do paciente. As alterações provocadas no tecido epitelial e conjuntivo subjacente diminuem o potencial de reparo da região e facilitam a infecção secundária. O conhecimento da biologia dos tecidos orais e o desenvolvimento de

agentes com ação direta nesses tecidos representam perspectivas promissoras para o tratamento das alterações orais decorrentes do tratamento antineoplásico.

Abramof¹, em 2008 fez considerações sobre o efeito citotóxico da quimioterapia sobre as células da camada basal do epitélio, provocando diminuição da taxa de renovação celular com atrofia e ulceração do tecido. O medicamento ataca a medula óssea induzindo trombocitopenia e granulocitopenia, predispondo o paciente a infecções e sangramento. A ulceração do epitélio com conseqüente exposição do tecido conjuntivo pode permitir a entrada de microorganismos e causar infecções sistêmicas. Os pacientes podem ainda apresentar quadro de desnutrição e desidratação. A ação do quimioterápico provoca ainda danos nas células e no DNA, liberação de espécies de oxigênio reativas e produção de citocinas inflamatórias que são responsáveis por alteração no tecido conjuntivo e endotélio.

3.2 Utilização do laser de baixa intensidade para redução da incidência e da severidade da mucosite

Estudo retrospectivo realizado por Pourreau-Schneider et al.⁷⁶, em 1992, teve como objetivo verificar a ação do laser de baixa intensidade de Hélio-Neônio (He-Ne) (25 mW e 632,8 nm) no tratamento da mucosite provocada por tratamento antineoplásico. Os pacientes incluídos no estudo apresentavam

diagnóstico similar e receberam regime quimioterápico idêntico. A amostra foi dividida em 3 grupos, sendo o grupo 1 composto por 20 pacientes que não receberam laserterapia, o grupo 2 composto por 16 pacientes que receberam tratamento curativo com laser após o aparecimento da lesões e o grupo 3 composto por 23 pacientes que receberam tratamento preventivo com laser (antes e durante a quimioterapia). O regime quimioterápico incluiu o uso de 5-FU por 5 dias através de infusão intravenosa contínua associada a quimioterápicos como cisplatina, doxorrubicina e ciclofosfamida, entre outros. Para classificar a mucosite, utilizou-se uma gradação baseada na Organização Mundial de Saúde, sendo grau 0 (normal), grau I (eritema leve), grau II (mucosite moderada, com erosão leve), grau III (mucosite moderada a severa com ulcerações múltiplas ou eritema generalizado) e grau IV (mucosite severa, ulcerações múltiplas, disfagia e impossibilidade de nutrição por via oral). Houve incidência de mucosite em 43% dos 51 ciclos de quimioterapia realizados no grupo1, que não recebeu aplicação de laser. Houve diminuição no tempo de reparo de lesões grau IV no grupo II, sendo este tempo de 19,3 dias (grupo controle) e 8,1 dias (grupo II). De um total de 95 ciclos de quimioterapia realizados no grupo 3, em 94% não houve complicações orais. Observou-se ainda graus baixos de mucosite e reparo mais rápido das lesões, não havendo necessidade de alterar o regime quimioterápico desse grupo.

Barasch et al.⁹, investigaram o uso do LILT para prevenir a mucosite induzida por terapias condicionantes em pacientes que receberam transplante de medula óssea. Neste estudo controlado, prospectivo e duplo cego, 20 pacientes receberam aplicação unilateral de laser na cavidade oral durante 5 dias consecutivos, a partir do dia -1, sendo o transplante de medula óssea realizado no dia 0. A região contralateral recebeu apenas placebo, representando o controle. Utilizou-se um aparelho com comprimento de onda emitindo em 632,8 nm, 25 mW de potência, sendo 5 regiões da cavidade oral irradiadas por 40 segundos, com densidade de energia de 1,0 J/cm². A severidade da mucosite e da dor associada foi menor no lado tratado com laser. Lesões ulceradas foram encontradas em todos os pacientes, bilateralmente. As regiões mais afetadas foram o assoalho da boca, seguido pela região lateral da língua, mucosa jugal, ventre da língua, lábio e palato. A severidade da mucosite aumentou a partir do sexto dia e essa complicação se resolveu por volta do vigésimo primeiro dia. Os autores concluíram que o tratamento preventivo com laser foi bem tolerado pelos pacientes e reduziu a severidade da mucosite induzida pela quimioterapia, embora não tenha reduzido sua incidência.

Em 1997, Cowen et al.²³ avaliaram a eficiência do uso do laser de baixa intensidade de He-Ne na prevenção da mucosite induzida por quimioterapia. Participaram do estudo 30 pacientes que

receberam altas doses de quimioterapia previamente à realização de transplante de células tronco ou medula óssea. Foi administrada ciclofosfamida através de injeção intravenosa em 27 pacientes nos dias - 5 e - 4. Três pacientes receberam melfalan no dia - 4, além de irradiação corpórea total com 4 Gy por 3 dias. O laser foi aplicado durante 5 dias consecutivos (dia - 5 ao dia - 1) em 5 regiões da cavidade oral: lábio inferior, lábio superior, mucosa jugal, língua e assoalho da boca. Utilizou-se um aparelho de laser operando em 632,8 nm, 60 mW, sendo cada região irradiada em 15 pontos diferentes por 10 segundos, densidade de energia de 1,5 J/cm² e energia total de 54 J em cada região. Os pacientes foram examinados diariamente por enfermeiras que não sabiam qual o tratamento dado (laser ou placebo), sendo a mucosite classificada por sistema de escore de 0 a III. Foram consideradas as características da cavidade oral, além de capacidade de deglutir, alterações da voz, da saliva e presença de dor. Os pacientes que receberam laser apresentaram menor incidência, severidade e duração de mucosite, havendo diferenças estatisticamente significantes em relação ao grupo que recebeu placebo. Houve ainda, no grupo que recebeu laser, menor incidência de dor, melhor capacidade para deglutir e xerostomia menos acentuada, embora tenha sido necessária a utilização de nutrição via parenteral.

Migliorati et al.⁶⁶, em 2001, realizaram um estudo piloto em que avaliaram a utilização do LILT no controle da dor associada à mucosite oral após transplante de medula óssea e alta dose de quimioterapia. Todos os 11 pacientes participantes receberam tratamento com laser de arseneto de gálio e alumínio (AsGaAl) em toda a mucosa, sendo o comprimento de onda de 780 nm e potência de 60 mW, com densidade de energia igual a 2 J/cm². A aplicação de laser iniciou-se no dia - 5 terminando no dia + 5 após o transplante. A presença e a severidade da mucosite foram avaliadas por meio da escala WHO e a dor foi medida utilizando-se escala visual. Apenas um paciente apresentou ausência de mucosite, porém, todos toleraram bem o tratamento antineoplásico, não havendo necessidade de interrupção da quimioterapia. Nenhum dos pacientes desenvolveu o escore máximo de dor e de mucosite. Os autores atribuíram esses resultados aos efeitos benéficos do laser sobre os tecidos e ao seu potencial para controle da dor.

Segundo Bensadoun, Ciais¹¹ (2002), a mucosite é o principal fator limitante ao tratamento antineoplásico, não havendo, até o presente momento, tratamento apropriado e efetivo. O manejo desta condição é apenas direcionado ao controle dos sintomas e à prevenção de infecções. Os autores realizaram um estudo randomizado duplo-cego para determinar se aplicações preventivas de laser de He-Ne poderiam reduzir ou prevenir a mucosite orofaríngea provocada por radioterapia.

Participaram da pesquisa 30 pacientes com idade média de 60,4 anos que foram divididos aleatoriamente em grupo tratado com laser (L+) e grupo tratado com placebo (L-). Previamente à radioterapia realizou-se exame oral e tratamento dentário preventivo. Recomendações de higiene oral diária também foram dadas. A radioterapia teve duração de 7 semanas e os pacientes receberam aplicação do laser por 5 dias consecutivos em cada semana, durante todo o período de tratamento. A irradiação foi feita em 9 áreas distintas da cavidade oral, com comprimento de onda de 632,8 nm, potência de 60mW, densidade de energia de 2 J/cm² e tempo de exposição igual a 33 segundos por área. Utilizou-se a escala da Organização Mundial de Saúde para avaliação da mucosite e um escala visual para avaliação da dor. Os autores observaram que a aplicação de laser atrasou o início da mucosite, atenuou seu pico de severidade e reduziu sua duração. Houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos L+ e L- a partir da semana 4 até a semana 7 do tratamento radioterápico. Todos os pacientes desenvolveram mucosite na semana 2, porém, durante as 7 semanas de tratamento, o escore médio de mucosite foi mais baixo no grupo L+ (p=0,01). No grupo L+ também houve redução da administração de morfina, indicando a menor presença de dor neste grupo. Concluiu-se que a laserterapia com He-Ne é um método eficiente e seguro para prevenção da mucosite decorrente de radio e quimioterapia, devendo ser combinada às demais opções existentes.

Para avaliar a efetividade do laser de He-Ne em reduzir lesões orais e sintomatologia dolorosa decorrentes de tratamento quimioterápico administrado em crianças, Van Hamme et al.¹⁰⁸, em 2003, irradiaram 9 regiões distintas da cavidade oral, com o aparelho emitindo luz laser com comprimento de onda de 632,8 nm e densidade de energia variando de 1 a 2 J/cm² para prevenção, e 3 a 4 J/cm² para cicatrização. O tratamento iniciou-se no primeiro dia de quimioterapia e teve duração de 3 semanas. O laser foi aplicado 3 vezes por semana para prevenção da mucosite e 4 vezes por semana para cicatrização das lesões. A mucosite foi avaliada a partir de escore com 4 pontos. Também foram avaliadas a presença de dor e a capacidade de ingestão de alimentos. Os autores observaram redução na incidência e severidade da mucosite e consideraram a laserterapia capaz de promover cicatrização das lesões. Concluíram que o laser de baixa intensidade representa um tratamento promissor para crianças que desenvolvem mucosite durante a terapia antineoplásica.

Sandoval et al.⁸², em 2003, avaliaram os benefícios da laserterapia no manejo da mucosite oral em 18 pacientes com idade variando entre 4 e 82 anos, recebendo quimioterapia ou radioterapia para câncer de cabeça e pescoço, leucemia, linfoma e outros sarcomas. A aplicação de laser de baixa intensidade sobre as lesões orais foi realizada diariamente, até a cessação dos sintomas. Utilizou-se aparelho de laser emitindo em 660 nm, 30 mW, 2 J/cm² e tempo de 1 minuto e 6 segundos

para cada aplicação. A severidade da mucosite foi avaliada por meio de uma escala baseada em características clínicas e na capacidade de deglutição. A dor foi avaliada por meio de uma escala visual, antes e depois de cada aplicação. Os dados obtidos neste estudo mostraram melhora da condição oral dos pacientes após a laserterapia, considerando-se fatores clínicos e funcionais. O alívio da dor foi relatado por 66,6% dos pacientes após aplicação do laser. Mucosite grau III (incapacidade de ingerir alimentos sólidos) foi reduzida em 42,85% dos casos. Mucosite grau IV (presença de úlceras) foi reduzida em 75% dos pacientes que apresentavam esta condição no início da terapia. Os autores concluíram que o laser de baixa potência foi bem tolerado pelos pacientes, mostrou efeitos benéficos sobre a mucosite oral e melhorou a qualidade de vida dos pacientes durante o tratamento oncológico.

Eduardo et al.³², em 2004, realizaram estudo duplo-cego para avaliar o efeito da irradiação com laser de baixa intensidade na prevenção de mucosite oral em 70 pacientes que receberam transplante de medula óssea. Esses pacientes foram divididos em 3 grupos (grupo 1: aplicação de LILT emitindo no comprimento de onda de 650 nm; grupo 2: LILT emitindo no comprimento de onda de 780 nm; grupo 3: placebo). O laser foi aplicado a partir do primeiro dia da terapia condicionante até dois dias após o transplante de medula óssea. A mucosite foi classificada a partir de escores. Os autores concluíram que o tratamento realizado no

grupo I, usado como uma medida preventiva, reduziu a severidade da mucosite oral e contribuiu para o controle da dor.

Estudo de 2005, realizado por Nes, Posso⁶⁹, avaliou 13 pacientes com idade entre 38 e 76 anos, que receberam aplicação diária de laser contendo como meio ativo AsGaAl, durante 5 dias consecutivos, com o objetivo de redução da dor decorrente da instalação da mucosite. Os seguintes parâmetros foram utilizados: 830nm, 250 mW, 35J/cm² por ponto. Foi utilizada uma escala visual analógica para medir a dor dos pacientes antes e após cada aplicação. Os autores observaram que houve redução da dor em todos os dias avaliados, havendo redução de 47% no primeiro dia e 95% no dia 5. Os autores afirmam que o controle da dor é uma das principais preocupações durante o manejo da mucosite, podendo determinar o sucesso do tratamento antineoplásico. Constatou-se que ainda não existem recomendações definidas em relação ao melhor nível de energia a ser usada, embora a maioria dos trabalhos afirme que o laser é um método seguro e eficiente para controle da dor e tratamento da mucosite. O presente estudo apresentou algumas limitações como a avaliação de um grupo pequeno de pacientes e ausência de grupo controle. Entretanto os autores concluíram que o laser terapêutico nos parâmetros usados no presente estudo apresentou efeito analgésico imediatamente após sua aplicação nos pacientes com mucosite. Concluíram ainda que o uso de potências altas mostrou-se eficaz no controle da dor e permitiu diminuição do tempo de aplicação.

Em 2006, Migliorati et. al⁶⁷. publicaram estudo realizado a partir de uma pesquisa nos dados de base Medline e Ovid com o objetivo de avaliar o uso de agentes naturais e tratamentos alternativos para mucosite. Encontraram-se dois trabalhos referentes ao uso do laser para tratamento da mucosite. O uso do laser demonstrou resultados benéficos para prevenção e tratamento da mucosite oral e no controle da dor associada a essa alteração bucal. Entretanto os estudos clínicos avaliados mostram falhas no delineamento experimental e outros problemas encontrados como, falta de protocolo padronizado, uso de diferentes equipamentos e parâmetros variados. Variações quanto ao comprimento de onda e ferramentas para classificação da mucosite comprometem o estabelecimento de resultados conclusivos e tornam difícil a padronização dos protocolos utilizados e comparação de resultados. Os autores concluíram que os estudos encontrados apresentam insuficiência de evidência científica, o que torna inviável, até o momento, a implementação de um protocolo para tratamento da mucosite com laser. Assim, apesar de promissor, essa terapia precisa ser investigada em estudos com parâmetros bem definidos com o objetivo de no futuro haver um guia de utilização baseado em evidência científica.

Genot, Klastersky⁴¹ (2005) concluíram, com base nos dados obtidos através da revisão da literatura, que há evidências de que o laser terapêutico é útil para reduzir a severidade da mucosite associada à quimioterapia e à radioterapia, mesmo que os estudos controlados nessa

área sejam poucos e não incluam grande número de pacientes. Os trabalhos trazem evidências de que a irradiação com laser pode reduzir a dor quando as lesões já estão instaladas, retardar sua progressão e acelerar a cicatrização. Essa evidência deve ser confirmada com trabalhos futuros, principalmente com pesquisas básicas desenvolvidas com o objetivo de melhor entender a ação do laser sobre a mucosite. Os autores citam ainda que nenhum guideline foi criado até o momento para indicar como protocolo o uso do LILT, porém frente a falta de efeitos colaterais e tóxicos com o uso dessa terapia e frente às evidências de que seu uso traz benefícios para o controle da dor, prevenção e cicatrização das lesões vistas em pacientes com mucosite, os clínicos podem ser encorajados a usar essa técnica até que os efeitos do laser sejam definitivamente comprovados em estudos cegos randomizados fase III com grande número de pacientes.

Arun Maya et al.⁸, em 2006 realizaram estudo para avaliar o papel do laser de He-Ne na prevenção e no tratamento da mucosite em pacientes recebendo radioterapia para carcinoma na cavidade bucal. O grupo controle foi composto por 25 pacientes que receberam apenas tratamento paliativo para a mucosite com analgésicos e bochecho com solução salina. O grupo tratado apresentou o mesmo número de pacientes e recebeu tratamento com laser nos seguintes parâmetros: 632,8 nm, 10 mW, 3 minutos por 5 a 7 dias com densidade de energia de 1,8 J/cm². Utilizou-se escala WHO para avaliação da mucosite e escala

análoga visual para dor. Os autores não observaram efeitos colaterais com o uso do laser, que foi efetivo na redução da mucosite e da dor nos pacientes tratados com radioterapia. O laser atrasou o início do desenvolvimento da mucosite, atenuou o pico de mucosite e encurtou a duração dessa alteração bucal. Os autores discorrem sobre a possível ação antiinflamatória e analgésica do laser, e sua capacidade de induzir o aumento da vascularização e re-epitelização dos tecidos injuriados.

Antunes et al.⁵ realizaram estudo clínico prospectivo randomizado com placebo em 38 pacientes submetidos a transplante de medula óssea que apresentavam alto risco de desenvolvimento de mucosite. Realizou-se aplicação diária de laser diodo emitindo no comprimento de onda de 660 nm, com 50 mW de potência e dose de 4J/cm², 16,7 segundos por pontos, total de 15 pontos por região. A irradiação foi realizada até que se obtivesse recuperação da contagem normal de neutrófilos. A mucosite foi avaliada com escala WHO e OMAS. Observou-se menor índice de mucosite no grupo tratado. Pacientes do grupo controle que atingiram mucosite grau 4 ou formação de úlceras maiores que 12 cmm receberam laser com 8J/cm² supostamente tendo um efeito terapêutico, e essa aplicação proporcionou uma rápida cicatrização das úlceras (6 dias). Enquanto a escala OMAS quantifica úlcera e eritema, a escala OMS é importante, pois associa sinais e sintomas. Houve correlação entre as duas escalas e ambas mostraram diferenças entre o grupo tratado e o grupo controle. Os autores

concluíram que o laser terapêutico é um instrumento valioso para redução da incidência da mucosite bucal.

França et al.³⁶ realizaram estudo em hamsters com o objetivo de avaliar clínica e histologicamente os efeitos do laser terapêutico como medida profilática e para tratamento da mucosite já instalada. Para avaliar o efeito preventivo do laser os autores fizeram comparação com utilização cubos de gelo, um método aceito e indicado para prevenção da mucosite. A indução da mucosite foi realizada por meio de injeção intraperitoneal de agente quimioterápico associado a escarificação da mucosa jugal dos animais, realizada nos dias 4 e 5. O grupo laser foi composto por 14 animais que receberam irradiação do dia 1 ao dia 4, com laser de AsGaAl, 660nm, 30mW, 1 W/cm² por ponto, 40 segundos, escaneando 1 cm² (4 pontos diferentes por 10 segundos cada), dose 1,2J/cm². A mucosite foi avaliada por meio da escala OMAS modificada e adaptada para hamster: 0 - sem ulceração e eritema; 1 - ulceração menor que 4mm e eritema leve; 2 - ulceração entre 4 e 9 mm e eritema moderado; 3 - ulceração maior que 9 mm e eritema severo; 4 - presença de pseudomembrana. A aplicação foi realizada até o dia 5, quando surgiu o primeiro sinal da mucosite. Houve acompanhamento clínico até o dia 11. Nos dias 3, 6, 9 e 11, três animais por período foram selecionados para realização de biópsia excisional da mucosa jugal. O grupo que recebeu crioterapia foi composto por 14 animais que utilizaram pastilhas de gelo 5 minutos antes da injeção até dez minutos após. Perda

de peso foi esperada, devido ao desconforto e dor dos animais. Na fase preventiva do estudo usou-se a mucosa direita dos animais. Na segunda fase, representando o estudo terapêutico, trabalhou-se na mucosa esquerda: A partir do dia 5 houve rearranjo aleatório dos animais remanescentes (22) em dois novos grupos: controle e tratado com laser, que recebeu irradiação do dia 6 ao dia 11, com os mesmos parâmetros descritos anteriormente. Os autores observaram danos menos severos no epitélio e cicatrização mais rápida, organização do tecido de granulação e aumento da angiogenese. Conclui-se que o laser foi mais efetivo que as patilhas de gelo para prevenção da mucosite e apresentou efeito benéfico no tratamento da mucosite já estabelecida

Cruz et al.²⁴ avaliaram a influencia do laser terapêutico na prevenção da mucosite bucal em crianças recebendo quimioterapia para tratamento do câncer. Foram avaliados 60 pacientes distribuídos no grupo controle (sem tratamento) e no grupo tratado com laser, nos parâmetros de 780nm, 60mW, 4J/cm², 5 regiões bucais, 5 dias consecutivos, iniciando-se no primeiro dia da quimioterapia. Para avaliação da mucosite utilizou-se a escala da NCI (0 = sem mucosite; 1 = úlceras indolores, eritema ou leve ardência na ausência de úlceras; II = eritema, edema ou ulceras causando dor, mas paciente capaz de comer; III = eritema, edema ou úlcera dolorosas, requerendo hidratação; IV = necessidade de nutrição e suporte via parenteral. Avaliação clínica realizada nos dias 1, 8 e 15. No presente estudo 40% da amostra apresentou algum grau de mucosite.

Houve acompanhamento de higiene oral rigoroso nos dois grupos e isso pode ter influenciado o resultado e explicado a baixa frequência da mucosite nos dois grupos. Houve correlação entre a frequência de escovação e a taxa de mucosite (pacientes preencheram questionário sobre a frequência e tempo de escovação). Os escores observados para mucosite no grupo controle foram menores no dia 8, porém, sem diferenças estatisticamente significantes. No último dia de avaliação, a prevalência e a severidade da mucosite foram similares nos dois grupos. O estudo conclui que não houve evidência de benefícios pelo uso do LILT.

Jaguar et al.⁴⁸, em 2007, investigou os efeitos clínicos do laser terapêutico na prevenção e na redução da mucosite em pacientes submetidos a transplante de medula óssea e que apresentavam diferentes tipos de neoplasias, incluindo Linfoma Hodgkin e não Hodgkin, mieloma múltiplo e câncer testicular. O grupo controle foi formado por 25 pacientes que não receberam tratamento e no grupo experimental 24 pacientes receberam irradiação com luz laser em caráter profilático. O grupo controle foi obtido a partir da análise dos prontuários dos pacientes em anos anteriores. A avaliação da mucosite foi baseada na escala da OMS. Foi usado laser de diodo de AsGaAl (660nm) em quatro regiões da mucosa bucal a partir do início da terapia condicionante até 2 dias após o transplante, com 10 mW de potência e densidade de energia de 2,5J/cm² por 10 segundos. O uso do LILT foi bem tolerado pelos pacientes e não

se observou nenhum efeito colateral. No grupo controle a mucosite se instalou em média dois dias antes quando se comparou ao grupo tratado. 60% dos pacientes do grupo controle relataram dor contra 33% do grupo tratado. A porcentagem de pacientes que necessitaram de nutrição via parenteral foi similar nos dois grupos. O grupo tratado apresentou menor incidência dos escores III e IV. No presente estudo a incidência da mucosite foi semelhante nos dois grupos, sendo que 100% dos pacientes apresentaram algum grau de mucosite. Apesar da amostra heterogênea e pequena, os autores concluíram que o uso do laser se mostrou uma técnica simples e que promoveu redução da dor e da severidade da mucosite.

Estudo de 2008, de Eduardo et al.³³, descreveu a incidência e a severidade da mucosite em pacientes submetidos à laserterapia. O estudo envolveu 30 pacientes que receberam regime de quimioterapia prévio a transplante de células hematopoiéticas. Esses pacientes tiveram acompanhamento diário para supervisão do cumprimento das recomendações quanto aos cuidados com a higiene oral, que incluíram escovação com escova macia, uso de solução para bochecho livre de álcool e contendo glucose oxidase, lactoperoxidase lisosima e lactoferrina (Biotène®) e uso de hidratante labial. Os pacientes receberam aplicação de laser emitindo no comprimento de onda vermelho (660 nm), tendo como meio ativo InGaAlP (índio-gálio-alumínio-fosfato), potência de 40mW e densidade de energia de 4J/cm² (para prevenção) e

6 J/cm² para tratamento das lesões já instaladas, tendo o *spot* tamanho de 0,036 cm². Os pacientes receberam sessões diárias de laserterapia, iniciando-se no primeiro dia do regime condicionante até o dia do transplante de medula óssea ou até a remissão completa das úlceras. A contagem de leucócitos também foi usada para determinar o término do tratamento com o laser terapêutico. Houve uma média de 18, 2 sessões de tratamento. Foram irradiadas nove regiões anatômicas (lábio inferior e superior, mucosa labial inferior, mucosa jugal direita e esquerda, laterais da língua, ventre da língua e assoalho da boca) e as lesões foram classificadas de acordo com a escala OMS. Dos 30 pacientes avaliados, apenas 1 desenvolveu mucosite grau IV e 7 grau III (porém, sem presença de lesão). A maioria apresentou grau I e II, sendo que nos casos mais graves observou-se redução das lesões nos dias 5 e 8 após o transplante. Os dias 5 e 8 foram selecionados pois é quando há o maior risco para desenvolvimento da mucosite. Os autores sugeriram que o LILT foi o responsável pela diminuição da severidade da mucosite nos pacientes avaliados, uma vez que os medicamentos antineoplásicos usados por esses pacientes reconhecidamente produzem alta incidência de mucosite grau III e IV. O protocolo usado no presente estudo baseou-se na patogênese da mucosite. Já está estabelecido que os danos epiteliais causados pela quimio e radioterapia são precedidos por mudanças vasculares e o laser terapêutico tem se mostrado capaz de estimular a angiogênese, o que também pode estar associado à

cicatrização das úlceras. Os autores concluíram que a laserterapia manteve o grau de mucosite dos pacientes entre I e II, o que foi um efeito positivo desse tratamento alternativo.

No trabalho realizado por Arora et al.⁷, em 2007, foram avaliados 24 pacientes com câncer de boca recebendo radioterapia. Esses pacientes foram divididos em dois grupos: Grupo 1; 11 pacientes que foram tratados com LILT; Grupo 2 (13 pacientes) representou o controle, sem tratamento. O grupo 1 foi irradiado com LILT diariamente, 8 dias antes da radioterapia, usando scanner emitindo no comprimento de onda vermelho, com 632,8 nm e potência de 10 mW, no modo varredura com 10 Hz por 5 minutos. Nos 25 dias restantes de tratamento foi utilizada uma fibra óptica para irradiar 6 regiões da cavidade bucal, com densidade de energia de 1,8 J/cm² e que em média demorou 5 minutos em cada região. A avaliação da severidade da mucosite foi avaliada por meio da escala do Grupo de Oncologia e Radioterapia e Organização Européia para Pesquisa e Tratamento do Câncer (RTOG/EORTC). Também se avaliou a capacidade de se alimentar e dor e a necessidade de uso de analgésico. A severidade da mucosite foi menor no grupo tratado durante as sete semanas de avaliação dos pacientes, havendo grau máximo III. Os autores sugerem que o uso do laser profilaticamente pode reduzir a severidade da mucosite.

Schubert et al.⁸⁴ em 2007 afirmaram que apesar das inúmeras pesquisas realizadas muito pouco progresso tem sido feito

quando se procura estabelecer estratégias para prevenir ou amenizar a mucosite bucal. O manejo da mucosite permanece paliativo, o que inclui o uso de solução salina para bochecho, anestésico tópicos, agentes de cobertura e analgésicos. O uso do laser terapêutico vem mostrando uma série de efeitos positivos desde que foi desenvolvido, há aproximadamente 40 anos, porém, o mecanismo pelo qual a luz laser age sobre as células ainda não está completamente esclarecido. Diversos estudos têm demonstrado os efeitos benéficos do laser para prevenção, redução da dor e severidade da mucosite, porém, os parâmetros usados nesses estudos variam significativamente, com diferentes fontes de luz, comprimentos de onda, potências e doses. Os autores realizaram estudo para determinar os efeitos preventivos de dois tratamentos com laser em pacientes que se submeteram a alta dose de quimioterapia associada ao transplante de medula óssea. 70 pacientes foram distribuídos em 3 grupos: 1 – laser com 650 nm e 40 mw; 2 – laser com 780 nm e 60 mw; 3 – placebo. O laser foi aplicado no primeiro dia da quimioterapia até 3 dias após o transplante de medula óssea. O número total de tratamentos variou de 7 a 13 dias. O laser foi aplicado em 6 regiões da cavidade bucal com dose de 2 J/cm^2 . Os autores observaram que a média dos escores relativos a severidade da mucosite foi menor no grupo que recebeu laser emitindo no comprimento de onda de 650 nm, embora a média do grupo tratado com 780 nm tenha sido menor que o grupo placebo. A dor também foi avaliada no presente estudo e os autores concluíram que a

sua redução não está associada ao efeito analgésico do laser e sim a melhor cicatrização das lesões. O estudo mostrou ainda que comprimento de onda menores, no espectro vermelho se mostram mais efetivos para o manejo da mucosite quando se compara a comprimentos de onda maiores, como 780 nm. A densidade de energia ideal para a prevenção e o tratamento da mucosite ainda não é conhecida e os trabalhos futuros devem se preocupar com os parâmetros ideais a serem utilizados. Concluiu-se a partir do presente trabalho que o laser terapêutico é eficaz para prevenir a mucosite nos pacientes submetidos a transplante de medula óssea.

Genot et al.⁴² (2008) realizaram dois estudos clínicos para avaliar a ação preventiva e terapêutica do laser. A irradiação foi realizada com densidade de energia de 1,2 J/cm², com 100 mW de potência por 33 seg em cada região em dias alternados. Usou-se a escala da RTOG/EORTC para classificar a mucosite. O primeiro estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito preventivo do laser. Nesse estudo, 26 pacientes passaram por ciclo prévio de quimioterapia e desenvolveram mucosite grau igual ou maior a 2. Houve média de 21 dias de tratamento. Apenas 5 pacientes apresentaram grau 2 e a maioria apresentou ausência de mucosite. Considerou-se que 81% dos pacientes se beneficiou com o uso do laser quando se comparou o ciclo anterior, realizado com o mesmo tipo de medicamento. No segundo estudo, avaliou-se o efeito terapêutico do laser. Para tal, 36 pacientes foram

divididos em grupo tratado e grupo placebo. Os pacientes foram incluídos apresentando-se com mucosite grau 1 e 2. 16 pacientes do grupo placebo desenvolveram mucosite grau 3 e em apenas 3 do grupo tratado. Considerou-se sucesso de 83%, representando a ausência de desenvolvimento de mucosite grau III. O estudo claramente mostrou benefício do uso do laser. Os autores acreditam que o presente estudo vem a somar a evidência científica disponível até o momento de que o laser representa um instrumento efetivo, seguro e com custo razoável para prevenir e tratar a mucosite oral associada as terapias antineoplásicas. Os autores consideram as limitações presentes no trabalho, referente ao tamanho da amostra e ao delineamento experimental, porém sugerem que o laser seja usado com o protocolo para prevenção e tratamento da mucosite.

Abramoff et al.¹, em 2008, avaliaram a ação do laser terapêutico na prevenção e tratamento da mucosite. Fizeram parte do estudo 13 pacientes distribuídos em 3 grupos: 1 – laser profilático; 2 – grupo placebo; 3 - laser terapêutico. Pacientes do grupo 1 que desenvolvessem lesão eram transferidos para o grupo 3. Foram realizadas três aplicações de laser contendo como meio ativo AsGaAl, emitindo 685 nm, com 35 mW e dose de 72 J/cm². Nesse estudo a redução da dor também foi avaliada através de escala visual de 10 pontos. Foram feitas três avaliações, com intervalo de 1 dia. Os autores mostraram que apesar da pequena amostra utilizada no estudo, a maioria

dos pacientes não desenvolveu mucosite no grupo profilático e houve recuperação rápida no grupo tratado e concluíram que o laser de baixa intensidade usado no presente estudo apresentou efeito preventivo e terapêutico.

3.3 Mecanismo de ação do laser

Mester et al.⁶⁵, em 1985, descreveram os resultados obtidos com o uso experimental e clínico do laser de baixa intensidade em diversos estudos. Dentre eles, observou-se uma melhor cicatrização de feridas cutâneas produzidas artificialmente no dorso de ratos após a irradiação com laser de rubi, duas vezes por semana, com densidade de energia de $1,1 \text{ J/cm}^2$. Este fato foi atribuído à capacidade do laser em estimular o metabolismo celular, promovendo aumento das mitoses e acelerando a formação de tecido de granulação. Em estudo clínico realizado em pacientes apresentando úlceras com cicatrização lenta ou ausente, os autores também observaram os efeitos benéficos do laser de He-Ne e de argônio após irradiação de 4 J/cm^2 , duas vezes por semana, em toda a úlceras. Os autores acreditam que a cicatrização deve-se à estimulação da produção de colágeno, fato confirmado em exames de microscopia eletrônica e concluem que a utilização do laser de baixa intensidade é recomendada para promover e acelerar a cicatrização de feridas e úlceras.

Karu⁵⁰ discutiu, em 1989, os efeitos da luz laser de baixa intensidade sobre diferentes tipos de células e tecidos e buscou explicar os mecanismos de ação da fotoestimulação produzida em nível celular. Segundo a autora, não existem dúvidas sobre a eficácia da laserterapia para tratamento de úlceras de diversas etiologias, porém, essa modalidade terapêutica ainda não está completamente compreendida e por isso gera dúvidas e ceticismo. A luz laser é capaz de acelerar os processos metabólicos das células e promover um estímulo para a proliferação celular, regulando a concentração de adenosina monofosfato cíclica e a produção de RNA e DNA. Esses efeitos fotobiológicos, entretanto, dependem, da intensidade da luz, da dose e do comprimento de onda, havendo um espectro de ação ideal para os diversos tecidos irradiados. Os componentes moleculares que absorvem a luz com comprimentos de onda específicos, produzindo uma resposta biológica, são os fotorreceptores, representados principalmente por componentes da cadeia respiratória, como citocromos, flavina desidrogenases e citocromo oxidases. Dessa forma, quando as células são irradiadas, a luz é absorvida pelos componentes da cadeia respiratória, o que desencadeia eventos químicos e físicos na mitocôndria, como o aumento da síntese de ATP e de íon hidrogênio (H⁺). A concentração aumentada de ATP e H⁺ promove a ativação de outros íons da membrana da célula como Na⁺ e K⁺, além de alterações no fluxo de Ca⁺ entre a mitocôndria e o citoplasma, alterando assim a homeostase celular e estabelecendo a

aceleração das mitoses. A autora afirma ainda que a fotossensibilidade das células depende de seu estado fisiológico previamente à irradiação. Quando uma célula apresenta funcionamento normal, o efeito da luz laser pode ser fraco ou inexistente. Ao contrário, diante de uma injúria tecidual, criam-se condições (baixa concentração de oxigênio, pH e nutrientes) que impedem a proliferação celular, sendo o laser um fotoestimulador para reverter essa situação. Concluiu-se que o laser é capaz de bioestimular os tecidos vivos, através de um fenômeno fotobiológico que envolve componentes da cadeia respiratória e que tem como consequência o aumento da proliferação celular e a indução de mudanças no potencial de ação de células excitáveis.

Em 1989, Pourceau-Schneider et al.⁷⁵ investigaram a influência de exposição única e múltipla ao laser de baixa intensidade sobre o crescimento de fibroblastos gengivais humanos obtidos a partir de biópsias realizadas na região retromolar de pacientes jovens e saudáveis. Após a biópsia, os espécimes foram preparados para obtenção da cultura de células, sendo os fibroblastos isolados das células epiteliais. Para a realização dos experimentos, as células foram mantidas em garrafas de 25 cm² e irradiadas com laser de He-Ne emitindo em 632,8 nm, 10 mW/cm², durante 10 minutos, o que resultou em uma densidade de energia de 1,2 J/cm². O grupo I (12 garrafas) não recebeu tratamento com laser; o grupo II (12 garrafas) recebeu 10 minutos de laser no dia 0; o grupo III (9 garrafas) foi irradiado nos dias 0 e 7 e o grupo IV (9 garrafas)

nos dias 0, 7 e 11. Após os períodos experimentais, contou-se o número de células de cada garrafa e as mesmas foram preparadas para avaliação em microscópio eletrônico de transmissão. A fotobioestimulação com laser de baixa intensidade promoveu aumento do número de fibroblastos nos grupos tratados sendo que os grupos que receberam múltipla irradiação apresentaram maior crescimento. As observações em microscópio eletrônico de transmissão revelaram diversas modificações morfológicas nos grupos irradiados, dentre elas hiperplasia e hipertrofia mitocondrial e abundante matriz fibrilar na região intercelular. Os autores sugerem que a presença de área microfilamentosas no citoplasma das células tratadas indica o potencial da laserterapia em induzir a formação de miofibroblastos, que são fenótipos celulares encontrados em tecidos de granulação durante processos de reparo, apresentando atividade contrátil e sintetizando colágeno.

Rochkind et al.⁷⁸, em 1989, avaliaram a ação do laser de baixa intensidade sobre o sistema nervoso de ratos Sprague-Dawley e sobre o processo de cicatrização de feridas cutâneas realizadas no dorso dos animais e de queimaduras provocadas em suas patas traseiras. As injúrias foram realizadas bilateralmente e irradiou-se apenas um dos lados comprometidos, sendo utilizado aparelho de He-Ne (632,8 nm) com potência óptica de saída de 16 mW. Utilizou-se densidade de energia de 7,6 J/cm² para o tratamento das feridas cutâneas e 10 J/cm² para o tratamento das queimaduras. Os animais receberam irradiação durante 7

minutos diariamente, por um período de 21 dias. Os autores observaram a aceleração da cicatrização das feridas induzidas não apenas do lado irradiado, mas também do lado não irradiado com laser. Também se observou melhora da cicatrização das queimaduras induzidas nas patas traseiras dos animais tanto do lado irradiado quanto do lado não irradiado, evidenciando um possível efeito sistêmico do laser. O grupo controle foi composto por animais que não receberam tratamento para as feridas cutâneas e para as queimaduras, apresentando ulcerações severas, necrose e gangrena. Os autores concluíram que a irradiação com laser de baixa intensidade acelerou a recuperação funcional e morfológica dos tecidos comprometidos e ainda apresentou efeitos sistêmicos benéficos.

Harris⁴⁴, em 1991, afirmou que para se compreender os mecanismos de ação da bioestimulação produzida pelo laser é preciso primeiramente entender o efeito da irradiação sobre as funções celulares e o papel dos cromóforos, aglomerados moleculares que absorvem luz. O evento físico inicial que ocorre durante a utilização do laser é a absorção da luz por moléculas específicas presentes nos tecidos irradiados, sendo que os citocromos, presentes nas mitocôndrias, são considerados fundamentais na absorção da luz e representam os cromóforos da bioestimulação. O papel do citocromo é liberar energia para formação do ATP, substância responsável por manter o metabolismo celular, tendo também a capacidade de absorver energia. Tal fato explicaria a ação do laser, uma vez que a energia luminosa proveniente da irradiação é usada

para a síntese de ATP pela célula, promovendo, conseqüentemente, o aumento do metabolismo celular. Porém, parece haver um mecanismo limitante para prevenir aumentos da taxa metabólica além do normal e desta forma a bioestimulação teria um efeito estimulatório seletivo sobre células deficientes, sem ação sobre tecidos normais.

Estudo realizado por Honmura et al.⁴⁶, em 1992, avaliou o efeito terapêutico do laser diodo de AsGaAl (780 nm, 10 mW, 31,8 J/seg/cm²) sobre a inflamação induzida em ratos através da inoculação de carragenina, um potente irritante inflamatório. Os grupos experimentais receberam tratamento com laser ou com o antiinflamatório indometacina. Utilizaram-se 3 métodos de avaliação da inflamação: 1 - Inoculação da carragenina em bolsas produzidas na região subcutânea do dorso dos animais para avaliação da permeabilidade vascular com auxílio de corantes. A região foi irradiada em cinco pontos, durante tempo máximo de 10 minutos; 2 - Formação de granuloma. Implantou-se papel absorvente contendo a droga na região subcutânea do dorso do animal e irradiou-se essa região durante 7 dias por até 5 minutos. Após o período experimental, o papel foi removido juntamente com o tecido de granulação formado, sendo analisado o peso deste tecido nos grupos estudados; 3 - Formação de edema na pata. Neste modelo experimental, injetou-se a droga nas patas traseiras dos animais, sendo uma delas tratadas com laser ou indometacina e a outra representando o controle. A irradiação foi realizada por até 3 minutos. Comparou-se o aumento de

volume nas regiões experimentais. Os animais que receberam aplicação de laser apresentaram diminuição da permeabilidade vascular no estágio de inflamação aguda; a formação de granuloma foi 20 % menor no grupo tratado com laser e essa modalidade terapêutica também foi capaz de reduzir o edema induzido. O efeito inibitório do laser foi superior ao da indometacina apenas no modelo de indução de granuloma, porém, em todos os casos a irradiação por menos de 10 minutos foi suficiente para inibir a inflamação em 20-30 %.

Shimizu et al.⁸⁶, em 1995, realizaram estudo *in vitro* para determinar o efeito de laser de baixa intensidade na produção de prostaglandina E_2 (PGE_2) e interleucina- 1β ($IL-1\beta$) em células do ligamento periodontal humano submetidas a estresse mecânico. As células utilizadas foram cultivadas em placas de fundo flexível e receberam uma força de tensão aplicada com um aparelho de vácuo chamado Flexecell Strain Unit, capaz de deformar o fundo da placa de cultura e promover uma elongação que é transmitida às células. A força de tensão foi aplicada às células durante 1, 3 e 5 dias. A irradiação foi realizada um vez ao dia durante 1, 3 e 5 dias com aparelho de laser de AsGaAl de 830 nm, 60 mW, tempo de exposição de 3, 6 e 10 minutos e densidade de energia correspondente variando entre 346 e 1153 J/cm². A concentração de PGE_2 e $IL-1\beta$ liberadas no meio de cultura foi determinada a partir de testes imunoradioativos. Os autores observaram que a aplicação de força de tensão nas células utilizadas induziu aumento

da liberação de PGE_2 e $IL-1\beta$, de maneira tempo-dependente. O aumento da produção de PGE_2 e $IL-1\beta$ foi inibido pela irradiação com laser de baixa intensidade de maneira dose-dependente. Os autores discutem a importância destes achados uma vez que tanto a PGE_2 como a $IL-1\beta$ estão envolvidos no processo inflamatório e na indução de dor e, dessa forma, o uso do laser seria uma opção terapêutica para o alívio da dor que acompanha, por exemplo, as movimentações dentárias em tratamentos ortodônticos.

Em 1996, Conlan et al.²¹ revisaram diversas pesquisas com o objetivo de avaliar os princípios básicos da bioestimulação produzida pela laserterapia. Os autores relataram que essa modalidade terapêutica vem sendo usada há mais de 20 anos com o objetivo de bioestimular os tecidos vivos, regulando os processos metabólicos celulares, melhorando o potencial regenerativo dos tecidos e apresentando potencial antiinflamatório e analgésico. Os autores observaram que o uso do laser ainda gera dúvidas, sendo que muitos problemas encontrados em estudos já realizados referem-se aos diferentes parâmetros usados, como tipo de laser, tempo de exposição, energia usada e tipo de tecido ou célula alvo, o que dificulta a comparação de resultados. Além disso, muitos estudos apresentam medidas subjetivas e que não são bem controlados, comprometendo a confiabilidade dos resultados. Os autores observaram ainda que os aparelhos de laser produzem uma forma particular de irradiação, sendo a

luz produzida monocromática, colimada e coerente, ao contrário da luz visível comum que é incoerente e engloba um amplo espectro de comprimento de onda de baixa intensidade. O mecanismo de ação do laser foi atribuído à absorção da luz monocromática pelas mitocôndrias gerando aumento dos processos metabólicos celulares. Assim, relatou-se o aumento de produção de ATP, proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno, estimulação de macrófagos, liberação de fatores de crescimento e de citocinas pelos fibroblastos, incorporação de ácido ascórbico pela célula e maior taxa de produção de matriz extracelular. Os autores concluíram que o papel do laser na bioestimulação da cicatrização de feridas em humanos ainda não está esclarecido, sendo necessários estudos em modelos animais que se assemelhem ao homem e a padronização de densidades de energia, comprimentos de onda e tipos de aparelhos a serem utilizados.

Garcia et al.³⁸, 1996, propuseram-se a analisar histologicamente o processo de reparação de feridas cutâneas provocadas na região dorsal de ratos e submetidas ao tratamento com laser. Com o auxílio de um *punch*, foram removidos dois fragmentos circulares de pele do dorso de 15 animais, sendo um à esquerda (controle) e outro à direita (ferida experimental, tratada com laser) do plano sagital mediano. Utilizou-se aparelho de laser de semiconductor com meio ativo de AsGa, infravermelho, de emissão pulsátil, 904 nm, 2100 Hz, 2 mW, 3 J/cm² em 8 pontos da ferida, totalizando 108 segundos de

aplicação. Os animais foram mortos decorridos 3, 7 e 14 dias dos procedimentos operatórios e da aplicação do laser. As peças foram removidas e processadas para realização da análise histológica. Os autores concluíram que as feridas experimentais tratadas com laser demonstraram reparação mais acelerada que a do grupo controle. Ficou evidente a maior taxa de migração epitelial, acentuada proliferação fibroblástica e vascular nas feridas experimentais, sendo esses efeitos biológicos mais evidentes no período de 3 e 7 dias.

Reddy et al.⁷⁶, em 1998, realizaram estudo para determinar os efeitos da fotoestimulação com laser sobre a produção de colágeno durante processo de cicatrização em tendão de Aquiles de coelhos. Foram realizadas incisões no tendão de Aquiles do lado direito em 24 coelhos. Após reparo, os membros operados foram imobilizados e os animais foram distribuídos em grupo controle e experimental. O grupo experimental recebeu tratamento diário durante 14 dias com laser de He-Ne de 632,8 nm e 1 J/cm². Após o período experimental, os tendões foram excisionados e processados para posterior análise bioquímica. O conteúdo total de colágeno foi determinado através de medidas da concentração de hidroxiprolina em cada amostra tecidual. Os autores encontraram um aumento de 26% na concentração de colágeno no grupo irradiado com laser, o que indicou um processo de cicatrização mais rápido quando comparado ao grupo controle. As análises bioquímicas também revelaram maior concentração de colágeno solúvel e insolúvel

sugerindo produção de colágeno acelerada no grupo experimental. Os autores concluíram que a utilização de terapia com laser de baixa intensidade para a cicatrização de tendões de coelhos facilitou e estimulou a produção de colágeno melhorando e acelerando o processo de cicatrização.

Tatarunas et al.¹⁰⁵, em 1998, realizaram estudo para avaliar a ação do laser de baixa intensidade de AsGa (904 nm), modo pulsátil, 27 W, em feridas cirúrgicas de pele de felinos. Realizou-se incisão cutânea de 6 cm e os animais foram divididos em 3 grupos, sendo que o grupo A recebeu irradiação de 4 J/cm², em 4 pontos; o grupo B recebeu 2 J/cm² em 4 pontos e o grupo C representou o controle, sem tratamento. Os animais foram avaliados clinicamente e histopatologicamente após biópsia realizada nos dias 2, 4, 8 e 15 após o ato cirúrgico. A análise dos resultados obtidos permitiu aos autores concluir que o laser de AsGa nas dosagens de 2 e 4 J/cm² atuou positivamente na cicatrização por primeira intenção de feridas cirúrgicas em pele de felinos e a dose de 2 J/cm² se mostrou mais vantajosa.

Garcia et al.³⁹, em 2000, estudaram a influência do número de aplicações do laser de baixa intensidade de AsGa de 904 nm, 2 mw, 2100 Hz, 3 minutos de exposição totalizando 0,36 J/cm², sobre o processo de reparação alveolar em ratos. Realizou-se exodontia do incisivo superior direito em 64 ratos divididos igualmente em 4 grupos. Os animais do grupo I não receberam nenhum tratamento após a exodontia;

Os animais do grupo II foram submetidos à aplicação única de laser, realizada imediatamente após a sutura das bordas da ferida. No grupo III, realizaram-se duas aplicações de laser, uma imediatamente e outra 24 horas após o ato cirúrgico e no grupo IV foram feitas 3 aplicações de laser, imediatamente, 24 e 48 horas após o ato cirúrgico. Decorridos 3, 7, 14 e 21 dias do ato cirúrgico, 4 animais de cada grupo foram mortos e a região contendo o alvéolo dental foi preparada para exame histológico. Durante análise dos resultados, os autores observaram que as feridas do grupo experimental, tratadas com laser, demonstraram processo de reparação alveolar mais diferenciado, caracterizado por formação mais rápida de tecido de granulação cicatricial, neoformação óssea precoce e fechamento rápido das bordas da ferida. Observou-se, ainda, que quanto maior a frequência de aplicação do laser de baixa intensidade, mais acelerado foi o processo de cicatrização e as características mais favoráveis observadas nos grupos experimentais persistiram ao longo de toda a pesquisa.

Lucas et al.⁶², em 2000, realizaram uma revisão sistemática com o objetivo de identificar estudos clínicos randomizados que avaliassem o uso do laser terapêutico infravermelho (820-950 nm) na cicatrização de feridas em humanos. Para tanto foram pesquisadas publicações entre o período de 1975 e 1998 em bases de dados eletrônicas. Os estudos encontrados foram avaliados e classificados de acordo com sua qualidade metodológica. A literatura apontou 8 estudos

que combinavam laserterapia e feridas em humanos, e destes, apenas 4 eram estudos clínicos randomizados. Apenas um estudo demonstrou o efeito benéfico da laserterapia. Em geral, a qualidade metodológica dos estudos avaliados variou de pobre a insuficiente. Os autores encontraram problemas no delineamento experimental dos estudos, altas taxas de desistência dos pacientes durante o experimento, existência de intervenções terapêuticas concomitantes à laserterapia, ausência de descrição dos métodos de randomização dos pacientes e tamanho inadequado da amostra. Segundo os autores, esses fatores acabam interferindo no poder estatístico para detectar efeitos clínicos relevantes. Associa-se a isso problemas resultantes da existência de diversos parâmetros para a utilização do laser, sendo os resultados dependentes do comprimento de onda, pulso, irradiância, densidade de energia, potência do aparelho e tempo de tratamento. Concluiu-se que não existem evidências científicas suficientes para a aplicação clínica do laser infravermelho no processo de reparo de feridas em pacientes com úlceras de decúbito, úlceras venosas na perna e outros tipos de feridas crônicas, sendo necessários novos estudos nesta área.

Sakurai et al.⁸², em 2000, realizaram estudo com o objetivo de determinar os efeitos da irradiação laser sobre a produção de PGE₂ e sobre a expressão gênica de cicloxigenase 1 e 2 em fibroblastos gengivais humanos expostos ao lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano. As células foram obtidas a partir de gengiva da papila dentária de pacientes

saudáveis, sendo posteriormente expostas ao LPS extraído de cepas bacterianas de *C. rectus* e irradiadas com laser de diodo de AsGaAl (830 nm), tempo de exposição variando entre 3 e 20 minutos e densidade de energia correspondente variando entre 0,95 e 6,32 J/cm². A quantidade de PGE₂ liberada no meio de cultura foi determinada por teste radioimunológico e os níveis de RNAm de COX-1 e COX-2 foram analisados por RT-PCR (*reverse transcriptase-polymerase chain reaction*), tanto no grupo controle como no grupo irradiado. Os autores observaram que a irradiação com laser reduziu significativamente a produção de PGE₂, com resultados dose-dependentes; irradiação durante 10 minutos inibiu 90 % da produção desse mediador químico; irradiação durante 20 minutos reduziu a produção de PGE₂ ao nível do grupo controle. A inibição da produção de PGE₂ levou ainda à redução dos níveis de RNAm COX-2. Concluiu-se que a irradiação com laser de AsGaAl de 830 nm promoveu a inibição de PGE₂ por fibroblastos gengivais humanos através da redução de RNAm COX-2 e os resultados apresentados foram considerados efeitos antiinflamatórios da laserterapia refletindo os eventos que ocorrem in vivo.

Schlager et al.⁸³, em 2000, avaliaram o efeito da irradiação com laser de baixa intensidade na cicatrização de queimaduras realizadas em ratos. Foram utilizados 30 animais divididos igualmente em 3 grupos. As queimaduras foram realizadas em ambos os flancos dos animais e apenas uma região foi tratada diariamente com laser de diodo

apresentando 670nm, 250mW e com densidade de energia de 2 J/cm². A região contralateral representou o controle, não recebendo irradiação com laser. Os animais foram sacrificados após 10 dias (grupo I), 20 dias (grupo II) e 30 dias (grupo III) para análise histopatológica. As queimaduras foram classificadas macroscopicamente e microscopicamente por meio de escores. Observou-se uma epitelização acelerada no grupo tratado, e maior edema no grupo controle, porém não houve diferença estatisticamente significativa. Também não houve diferença estatística nos achados histológicos (epitelização, conteúdo celular, tecido de granulação e vascularização) entre as feridas tratadas e não tratadas. Os autores concluíram que a irradiação de queimaduras com laser de diodo de 670 nm não proporcionou benefícios no processo de cicatrização.

Almeida-Lopes et al.³, em 2001, avaliaram o efeito do laser de baixa intensidade na proliferação de fibroblastos gengivais, *in vitro*, utilizando uma cultura primária de fibroblastos obtidos a partir de mucosa oral humana. As células foram cultivadas em meio de cultura contendo soro fetal bovino a 5 % (condição de déficit nutricional) e a 10% (condição ideal). O tratamento foi realizado com laser diodo com os seguintes comprimentos de onda: 670 nm, 780 nm, 692 nm e 786 nm. A fluência foi fixada em 2 J/cm² e o tempo determinado automaticamente pelo aparelho. Os autores analisaram o crescimento celular antes da irradiação e encontraram que as células cultivadas em condições de déficit nutricional apresentaram proliferação estatisticamente menor que

as células cultivadas nas condições ideais. Entretanto, quando irradiadas, as células em déficit nutricional apresentaram proliferação similar ou maior que aquelas do grupo controle. Os autores observaram que empregando-se a mesma potência, o crescimento celular mostrou-se similar entre os grupos experimentais, independentemente do comprimento de onda usado. Também se observou que tempos de exposição menores resultaram em maior proliferação celular. Conclui-se que o laser terapêutico aumentou, *in vitro*, a proliferação de fibroblastos.

Garcia et al.³⁹ realizaram, em 2001, estudo em ratos com o objetivo de avaliar, histologicamente, o processo de reparação em feridas de extração dental submetidas ao tratamento com laser de baixa intensidade de AsGa, infravermelho, de 904 nm apresentando diferentes energias. Para o desenvolvimento da pesquisa, realizou-se a exodontia do incisivo superior direito de 48 ratos que foram divididos igualmente em grupo controle (sem tratamento, sendo realizada apenas a sutura das bordas alveolares com fio de seda), grupo II (uma aplicação de laser pulsado na face vestibular do alvéolo, com 500 Hz, 0,8 mW, 180 segundos de exposição, 20 J/cm² de fluência e energia total de 0,14 J) e grupo III (uma aplicação de laser pulsado com 3700 Hz, 5,6 mW, 180 segundos, 154,2 J/cm² de fluência e 1,08 J de energia). Decorridos 3, 7, 14 e 21 dias, 4 animais de cada grupo foram mortos e removeu-se a porção da maxila contendo o alvéolo dental tratado e não tratado. Os autores observaram durante o exame histopatológico que as feridas de

extração dental submetidas ao tratamento com laser (grupos II e III) apresentaram reparação mais acelerada e diferenciada quando comparada a do grupo controle. As feridas do grupo III mostraram resultados ainda mais satisfatórios em relação ao grupo II, o que sugere que o laser com potência média de saída de 5,6 mW e 1,08 J de energia proporciona efeitos biológicos superiores, havendo formação mais rápida de tecido de granulação cicatricial e neoformação óssea mais acentuada.

Os efeitos bioestimulantes da terapia com laser de baixa intensidade sobre feridas agudas pós-cirúrgicas foram avaliados por Lagan et al.⁵⁹, em 2001, por meio de um estudo clínico controlado realizado em pacientes com avulsão parcial ou total de unhas do pé. O tratamento foi realizado em 7 feridas utilizando-se aparelho de laser de diodo de 830 nm, potência média de 30 mW, modo contínuo, densidade de energia de 9 J/cm². A irradiação foi realizada uma vez por semana em diversos pontos da margem das lesões. O grupo controle foi composto por 5 feridas, tratadas da maneira convencional. A avaliação das feridas foi realizada por um único examinador de maneira cega, sendo ainda avaliada a sintomatologia dolorosa. Os autores não encontraram diferenças estatisticamente significantes entre o grupo controle e o tratado com laser quando se avaliou o fechamento da ferida nem quando se avaliou o nível de dor relatado pelos pacientes e concluíram que não houve efeito benéfico da irradiação com laser infra-vermelho nas dosagens utilizadas para o tratamento de feridas agudas pós-cirúrgicas.

Nomura et al.⁷⁰, em 2001, avaliaram a influência da irradiação com laser de baixa intensidade na expressão de IL-1 β em cultura de fibroblastos gengivais humanos. Essas células residem no tecido gengival, alvo freqüente das bactérias orais, sendo que o LPS liberado por patógenos periodontais podem estimular a produção de IL-1 β , citocina relacionada ao processo inflamatório. Ante a capacidade do LPS em induzir a liberação de IL-1 β , adicionou-se LPS isolado de *Campylobacter rectus* ao meio de cultura e as células foram então irradiadas com laser de AsGaAl de 830 nm, com densidade de energia de 3,95 a 7,90 J/cm². O tempo de exposição variou de 3 minutos até 20 minutos. Observou-se aumento acentuado na produção de IL-1 β induzida pelo LPS, sendo essa citocina significativamente inibida após a irradiação com laser, de maneira dose-dependente. A irradiação durante 20 minutos reduziu a produção de IL-1 β ao nível do grupo controle, cujo meio de cultura não recebeu adição de LPS. Através da realização de RT-PCR, observou-se que esse efeito inibitório do laser sobre a IL-1 β relacionou-se a redução do mRNA da citocina e não à redução da enzima conversora de IL-1 β , responsável pela maturação dessa citocina. Os autores concluíram que a irradiação com laser foi capaz de inibir a produção de IL-1 β sugerindo que a laserterapia representa uma opção para combater as injúrias provocadas pela gengivite e periodontite.

Para investigar os efeitos do laser diodo de 809 nm na proliferação de fibroblastos gengivais humanos, Kreisler et al.⁵⁶, em 2002,

realizaram estudo in vitro. A irradiação foi realizada durante 75, 150 e 300 segundos correspondendo a uma fluência de 1,96, 3,92 e 7,84 J/cm², respectivamente, em regime único, por duas ou três vezes, com intervalo de 24 horas. A taxa de proliferação celular foi determinada após 24, 48 e 72 horas da irradiação por meio da fluorescência determinada por um indicador da atividade metabólica celular adicionado ao meio de cultura (Alamar Blue Assay). As culturas irradiadas demonstraram proliferação celular estatisticamente maior. Os autores concluíram que o efeito celular da irradiação com luz laser é evidente, mas sua duração é limitada, uma vez que as diferenças entre os grupos diminuem de maneira dose-dependente após 48 e 72 horas da irradiação. Os autores relatam ainda que o principal problema da utilização clínica do laser é a determinação da dosagem ideal, sendo necessários estudos que avaliem vários regimes de irradiação.

Pereira et al.⁷¹, em 2002, realizaram um estudo in vitro para avaliar o efeito do laser não-cirúrgico no crescimento de culturas de fibroblastos e na síntese de pro-colágeno. Células da linhagem NIH – 3T3 cresceram em condições de déficit nutricional e foram irradiadas com laser diodo de AsGa (904 nm) operando com 120 mW e densidade de energia variando entre 3 e 5 J/cm². O número de células foi determinado através da contagem das células viáveis em hemocítômetro após 2, 4, 5, e 6 dias. Para a análise da síntese de procolágeno, realizou-se sua imunoprecipitação usando-se um anticorpo anticolágeno policlonal I e

posterior eletroforese das amostras. Comparou-se a densitometria das bandas de procolágeno formadas em *software* apropriado. As culturas tratadas com 3 e 4 J/cm² apresentaram rápido crescimento celular apresentando valores significativamente maiores do que os encontrados no grupo controle. As culturas tratadas com 5 J/cm² apresentaram crescimento similar ao grupo controle durante todo o período experimental. Não houve diferenças na quantidade de procolágeno produzida pelos dois grupos. Os autores concluíram que a resposta celular mediante a bioestimulação com laser depende da combinação entre o comprimento de onda usado, a densidade de energia, a potência e o tempo de irradiação, sendo importante a realização de novos estudos em culturas de células para se determinar a melhor combinação entre esses parâmetros em diferentes linhagens celulares.

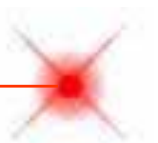
Kreisler et al.⁵⁷, em 2003, investigaram o potencial estimulatório do laser diodo de AsGaAl de 809 nm sobre a taxa de proliferação de fibroblastos humanos provenientes do ligamento periodontal. Os fibroblastos foram obtidos a partir do ligamento periodontal de terceiros molares, cultivados em condições padronizadas e espalhados em placas de cultura com 96 compartimentos. As células foram irradiadas durante 75, 150 e 300 segundos. O aparelho de laser operou com 10 mW de potência e fluência de 1,96, 3,92 e 7,84 J/cm², em função do tempo de irradiação. As taxas de proliferação do grupo irradiado e do controle foram determinadas em 24, 48 e 72 horas após a

irradiação por meio de um indicador de fluorescência com potencial de evidenciar o metabolismo celular (Alamar blue assay). Ocorreu aumento da proliferação celular nos grupos irradiados com as três diferentes fluências. Os autores discutiram sobre a necessidade de uma dose e um comprimento de onda específicos para a existência de um efeito biológico sobre os fibroblastos, sendo considerado o espectro de absorção ideal aquele variando entre 800 a 830 nm e concluíram que existiu um efeito celular após a irradiação com laser de diodo de 809 nm.

Estudo realizado por Koutná et al.⁵⁶, em 2003, avaliou o efeito de um laser com meio ativo de semicondutor de 830 nm sobre a proliferação de células HeLa (células humanas provenientes de câncer cervical). Estas foram mantidas em meio de cultura padrão, a 37 °C e atmosfera de 95% de ar e 5% de CO₂ e posteriormente transferidas para placas com compartimentos. A irradiação foi realizada em modo contínuo e pulsado com densidade de energia variando de 2 a 99 J/cm² e potência variando entre 72 e 360 mW. As células irradiadas foram incubadas e sua proliferação avaliada pelo teste MTT, método capaz de indicar atividade mitocondrial. As análises foram realizadas após 24, 48, 72 e 96 horas da aplicação do laser. As células irradiadas no modo pulsado apresentaram maior taxa de proliferação em relação às células irradiadas no modo contínuo e os autores concluíram que a luz laser na região do infravermelho próximo (830 nm) é capaz de estimular a proliferação de

células HeLa dentro do intervalo de 2 a 99 J/cm², sendo esse efeito dependente do modo de irradiação.

Material e método



4 Material e método

O protocolo de pesquisa apresentado a seguir foi submetido à apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEEA da Faculdade de Odontologia de Araraquara (Anexo 1).

4.1 Procedimentos operatórios

Foram utilizados 60 hamsters Sírios Dourados (*Mesocricetus auratus*), machos, com peso variando entre 90 e 160 gramas e idade entre 6 e 8 semanas. Os animais foram mantidos no Alojamento de animais da Faculdade de Medicina e Ciências da Saúde da Universidade de Brasília – UnB, em gaiolas coletivas de polipropileno própria para ratos contendo 5 animais por caixa e fornecimento de água e ração para roedores à vontade. O ambiente dispõe de salas individuais por pesquisador e controle de renovação de ar por exaustão.

Os animais foram divididos em 5 grupos (Tabela 1) e distribuídos da seguinte maneira:

Grupo I: Grupo experimental, composto por 12 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e receberam tratamento com LILT.

Grupo II: Grupo experimental, composto por 12 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e receberam tratamento com LILT.

Grupo III: Grupo experimental, composto por 12 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e receberam tratamento com LILT.

Grupo IV: Grupo experimental, composto por 12 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e receberam tratamento com LILT.

Grupo V: controle positivo, composto por 12 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e não receberam tratamento.

Tabela 1 – Grupos experimentais

Grupo	n	λ	Dose (por ponto)	Potência de saída	Energia total	Tempo de irradiação
I	12	685 nm	4 J/cm ²	35 mW	0,9 J	4 segundos
II	12	685 nm	12 J/cm ²	35 mW	1,5 J	10 segundos
III	12	660 nm	35 J/cm ²	100 mW	2,7 J	9 segundos
IV	12	660 nm	72 J/cm ²	100 mW	6 J	20 segundos
V	12	Sem tratamento (controle)				

A indução da mucosite foi realizada por meio de injeção intraperitoneal do quimioterápico fluoruracila (5-FU)* nos dias 0 e 2 do experimento, nas doses de 90 mg/Kg de peso e 60 mg/Kg de peso, respectivamente (Figura 1).

Para reproduzir o efeito de uma irritação crônica, a mucosa jugal dos animais foi evertida e fixada na mesa cirúrgica com auxílio de agulhas para insulina e escarificada (traumatizada) superficialmente nos dias 3 e 4 com uma escova apresentando 2 cm de largura, confeccionada com fio ortodôntico de 0,7 mm (Figura 2). A escova foi arrastada na superfície da mucosa por 4 vezes consecutivas, por um único operador, com força suficiente para produzir leve eritema na região.

Nos dias do procedimento de escarificação da mucosa oral, os animais foram anestesiados por meio de inalação de Halotano. Esse procedimento foi acompanhado por Médico Veterinário do local.

Os hamsters do grupo I e II tiveram a mucosa jugal irradiada nos dias 4, 6, 8, 10 e 12 do experimento, sendo utilizado o aparelho de laser de baixa intensidade Thera Lase* com comprimento de

* Fluoro-Uracil® 250mg/10ml, ICN Farmacêutica Ltda.

* D.M.C. Equipamentos Ltda. São Carlos – SP.

onda de 685 nm, potência de 35 mW e doses de 4 e 12 J/cm². Foram irradiados 3 pontos distintos da mucosa jugal esquerda de cada animal.

Os hamsters dos grupos III e IV receberam irradiação com Whitening lase (D.M.C. Equipamentos Ltda. São Carlos – SP), com 660 nm, 100 mW e doses de 35 e 72J/cm² (Figuras 3 e 4).

Foram selecionados aleatoriamente 6 animais dos grupos I, II, III e IV e V para realização da remoção da mucosa jugal esquerda nos dias 8 e 12 do experimento.

A biópsia foi realizada após anestesia, utilizando-se a mesma técnica descrita anteriormente. Neste procedimento, as mucosas foram removidas com uma tesoura cirúrgica (Figura 5). A mucosa jugal foi colocada imediatamente em recipiente contendo formol 10% tamponado.

A eutanásia dos animais foi realizada por meio da inalação de CO₂ em cuba própria para esse fim. Todos os animais foram eutanasiados no fim do experimento.



FIGURA 1 – Injeção intraperitoneal do agente quimioterápico



FIGURA 2 – Escarificação da mucosa com escova confeccionada com fio ortodôntico



FIGURA 3a – Laser de diodo contendo como meio ativo InGaAlP



FIGURA 3b – Laser de diodo contendo como meio ativo InGaAlP



FIGURA 4 – Pontos irradiados



FIGURA 5 – Remoção da mucosa jugal

Em todos os procedimentos operatórios (escarificação da mucosa, aplicação do laser de baixa intensidade, tomadas fotográficas e obtenção das biópsias) os animais encontravam-se anestesiados.

Para a realização do exame histopatológico, os fragmentos cirúrgicos foram obtidos da região central da mucosa jugal já fixada em formol. Essa região foi armazenada em compartimentos plásticos devidamente identificados. Após lavagem em água corrente por 24 horas, as peças foram submetidas ao seguinte processamento laboratorial de rotina:

1) Fase de desidratação por trocas consecutivas de álcoois em concentrações crescentes:

- álcool 70% por 24 horas;
- álcool 80%, duas trocas de 60 minutos;
- álcool 90%, duas trocas de 60 minutos;
- álcool absoluto (100%), por 72 horas, sendo realizadas três trocas a cada período de 24 horas.

2) Fase de diafanização:

- álcool/xilol por 60 minutos;
- xilol puro por 6 horas.

3) Fase de embebição das biópsias em parafina líquida:

- Peças cirúrgicas imersas em parafina líquida foram colocadas em estufa (60°C), onde permaneceram por 4 horas.

Após o processamento laboratorial, as peças cirúrgicas foram incluídas em blocos de parafina, sendo estes posicionados em um micrótomo rotatório*, onde foram desbastados com o auxílio de navalhas descartáveis** até que se alcançasse a peça. Cortes histológicos com 6 µm de espessura foram colocados em lâminas de vidro e corados alternadamente pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Masson para posterior avaliação dos eventos histopatológicos ocorridos em cada um dos grupos através de microscopia de luz*.

* 820 Spencer Microtome, Spencer Products Co., Carson, CA, USA.

** Disposable Microtome Blades - LEICA, model 818, Germany

* Microscópio Olympus BX51, Olympus Optical do Brasil, Ltda

4.2 Avaliação clínica e histopatológica da mucosite

Nos dias 6, 8, 10 e 12, a mucosa jugal foi evertida após anestesia e fotografada com máquina digital*, utilizando-se parâmetros padronizados.

A avaliação clínica da severidade da mucosite foi realizada a partir da observação das fotografias obtidas, que foram previamente embaralhadas e codificadas por um examinador e analisadas de maneira cega por um segundo examinador. Cada fotografia foi classificada por meio de uma escala de 6 pontos (Sonis et al.⁹⁰, 1999; Sonis et al.⁹⁸, 2000;), mostrada na Tabela 2 e na Figura 6.

Tabela 2 - Classificação clínica da mucosite

Classificação da mucosite	Características clínicas da mucosa jugal
Grau 0	Mucosa saudável
Grau 1	Presença de eritema leve, sem sinais de erosão
Grau 2	Eritema severo, vasodilatação e erosão superficial
Grau 3	Formação de úlceras em um ou mais locais, restritas a 25% da superfície total
Grau 4	Formação de úlceras abrangendo 50% da região
Grau 5	Completa ulceração da mucosa e perda de elasticidade/maleabilidade

* Canon ® Power Shot G3 4.0 megapixel

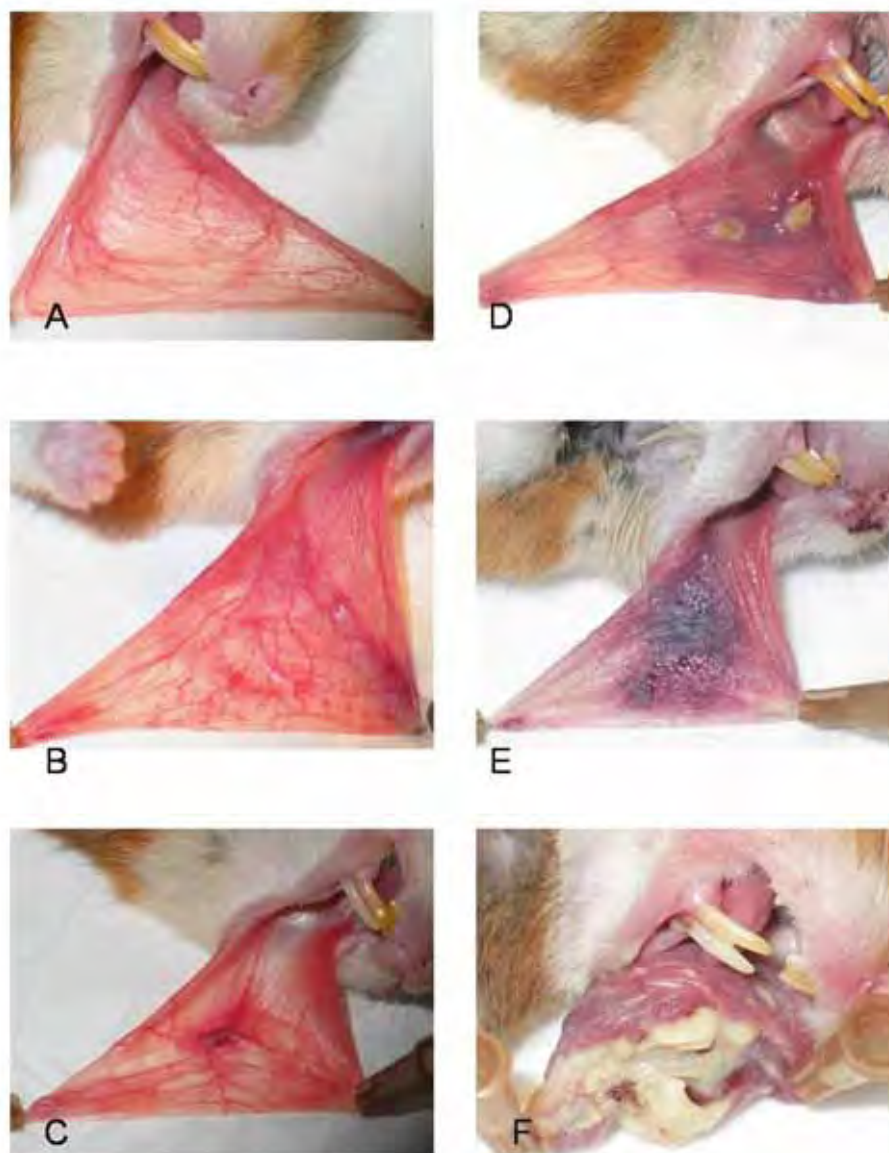


FIGURA 6 – Classificação da mucosite em 5 graus. A: Grau 0; B: Grau 1; C: Grau 2; D: Grau 3; E: Grau 4; C: Grau 5.

As características do tecido foram analisadas de maneira subjetiva e comparativa, de acordo com a intensidade da reação inflamatória no local. O material foi classificado em escores (Tabela 3) por um único examinador e de maneira cega. Os eventos histológicos observados na região da mucosa para cada grupo experimental foram descritos nos diversos períodos de avaliação.

Tabela 3 – Classificação dos eventos histopatológicos

Escore	Evento histopatológico
0	Inflamação ausente
1	Inflamação discreta
2	Inflamação moderada
3	Inflamação severa
4	Formação de abscesso

ISO 7405: 1997

4.3 Resumo dos procedimentos

Na Tabela 4 estão relacionados os procedimentos experimentais ao longo dos dias do experimento.

Tabela 4 – Representação esquemática do experimento

	Dia do experimento												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Injeção de 5-FU	■ ●		■ ●										
Arranhadura da mucosa				■ ●	■ ●								
Aplicação de laser					■		■		■		■		■
Fotografia							■ ●		■ ●		■ ●		■ ●
Sacrifício									■ ●				■ ●

■ - Grupos tratados com laser (GI, GII, GIII e GIV)

● - Grupo Controle (ausência de tratamento)

4.4 Análise estatística dos resultados

Neste estudo, o tratamento com laser ou a ausência de tratamento dos animais submetidos à quimioterapia foram considerados variáveis independentes, influenciando ou não na severidade da mucosite induzida, considerada como variável dependente. Assim, de acordo com a proposição deste trabalho, as hipóteses testadas foram:

H_0 : o tratamento não exerce influência sobre a severidade da mucosite

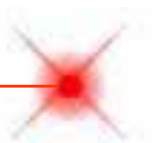
H_1 : o tratamento exerce influência sobre a severidade da mucosite

Como a avaliação do grau da mucosite forneceu dados ordinais e compararam-se grupos independentes, o teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado para verificar se há diferenças entre os grupos experimentais.

A análise estatística foi realizada ao nível de significância de 5 % ($\alpha = 0,05$) e após a rejeição da hipótese nula utilizou-se o teste de Mann-Whitney para identificar e comparar as diferenças entre pares de grupos.

Os escores representativos dos eventos histológicos determinados a partir da análise da reação tecidual foram submetidos aos mesmos testes descritos anteriormente (teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis complementado pelo teste de Mann-Whitney, o qual permitiu comparar os grupos com o objetivo de se localizar as diferenças entre eles).

Resultado



5 Resultado

5.1 Avaliação clínica da mucosite

O presente estudo teve por objetivo comparar os resultados do tratamento da mucosite bucal com LILT em diferentes parâmetros de irradiação durante 12 dias.

Foram formados 5 grupos. Os Grupos de I a IV foram tratados com $4\text{J}/\text{cm}^2$ - 35mW, $12\text{J}/\text{cm}^2$ - 35 mW, $35\text{J}/\text{cm}^2$ - 100 mW, $72\text{J}/\text{cm}^2$ - 100mW, respectivamente, e o grupo V não recebeu nenhum tratamento.

Na Tabela 5 está descrito o número de animais avaliados em cada grupo. Não foi possível aplicar o teste de Kappa devido ao tamanho da amostra e o número de categorias da mucosite (0 a 5), pois são medidas que influenciam no resultado deste teste.

Tabela 5 – Frequência de animais por grupo de estudo

	n	%
Grupo I	10	19,2
Grupo II	10	19,2
Grupo III	10	19,2
Grupo IV	12	23,0
Grupo V	10	19,2
Total	52	100,0

O estudo teve duração de 12 dias, os dias analisados foram 3, 6, 8, 10 e 12. Para cada avaliação feita do estágio da mucosite, nos dias citados, foi atribuído um escore que variava de 0 a 5. (anexo 2). As Tabelas 6 a 10 apresentam a frequência de cada escore por dia avaliado nos grupos de estudo.

Para todos os grupos, no dia 3, os animais apresentaram grau 0 de mucosite, ou seja, apenas com a aplicação do medicamento e o primeiro trauma não há alteração da mucosa bucal. Durante os outros dias do estudo a variação do escore era de uma unidade.

No Grupo I, a partir do dia 6 os animais evoluíram para escore 2 e 3 de mucosite. No dia 8, 50% dos animais desse grupo atingiram grau 5 de mucosite e no dia 12 já se verificava a diminuição do grau de mucosite, ou seja, melhora visível da mucosa após tratamento.

Tabela 6 – Frequência do escore por dia de avaliação no grupo I

Dia	Escore											
	0		1		2		3		4		5	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Dia 3	10	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dia 6	-	-	-	-	4	40,0	6	60,0	-	-	-	-
Dia 8	-	-	1	10,0	2	20,0	-	-	2	20,0	5	50,0
Dia 10	1	16,7	-	-	-	-	1	16,7	-	-	4	66,7
Dia 12	1	16,7	1	16,7	1	16,7	-	-	2	33,2	1	16,7

Os animais do Grupo II tiveram variação maior no grau de mucosite no dia 6, 60% tinha até grau 2, enquanto que os outros 40%

chegaram a grau 4. Ao final do dia 12 os animais restantes estavam entre grau 1 e 3, diferentemente de alguns animais do grupo I que ainda tinham grau 4 e 5.

Tabela 7 - Frequência do escore por dia de avaliação no grupo II

Dia	Escore											
	0		1		2		3		4		5	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Dia 3	10	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dia 6	1	10,0	3	30,0	2	20,0	3	30,0	1	10,0	-	-
Dia 8	2	20,0	2	20,0	2	20,0	3	30,0	1	10,0	-	-
Dia 10	-	-	-	-	1	20,0	4	80,0	-	-	-	-
Dia 12	-	-	1	20,0	2	40,0	2	40,0	-	-	-	-

No dia 8 os animais do Grupo III apresentaram mucosite maior que 3, no dia 12 os escores estavam entre 1 e 3.

Tabela 8 - Frequência do escore por dia de avaliação no grupo III

Dia	Escore											
	0		1		2		3		4		5	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Dia 3	10	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dia 6	-	-	-	-	1	10,0	8	80,0	1	10,0	-	-
Dia 8	-	-	-	-	-	-	3	30,0	1	10,0	6	60,0
Dia 10	-	-	1	20,0	1	20,0	-	-	3	60,0	-	-
Dia 12	-	-	2	40,0	2	40,0	1	20,0	-	-	-	-

No grupo IV não houve registro de animais com grau 5 de mucosite em nenhum dos dias, mas no dia 6, 83,4% tinham mucosite com

grau 3 ou 4, ao final do período houve melhora na mucosite que variou de 0 a 3.

Tabela 9 - Frequência do escore por dia de avaliação no grupo IV

Dia	Escore											
	0		1		2		3		4		5	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Dia 3	12	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dia 6	-	-	1	8,3	1	8,3	5	41,7	5	41,7	-	-
Dia 8	-	-	2	16,7	2	16,7	7	58,3	1	8,3	-	-
Dia 10	1	14,3	-	-	2	28,6	4	57,1	-	-	-	-
Dia 12	1	14,3	3	42,8	2	28,6	1	14,3	-	-	-	-

O grupo V que não recebeu nenhum tratamento teve melhora mais lenta apresentando maior grau de mucosite ao longo dos dias.

Tabela 10 - Frequência do escore por dia de avaliação no grupo

Dia	Escore											
	0		1		2		3		4		5	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Dia 3	19	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dia 6	-	-	-	-	1	5,3	4	21,1	3	15,8	11	57,8
Dia 8	-	-	-	-	1	5,3	5	26,3	4	21,1	9	47,3
Dia 10	-	-	1	11,1	2	22,2	1	11,1	3	33,4	2	22,2
Dia 12	-	-	1	20,0	-	-	-	-	3	60,0	1,0	20,0

Na Tabela 11 estão representadas as medidas descritivas dos escores de mucosite nos dias analisados por cada grupo estudado. Os grupos I, II e III apresentaram maior valor médio do escore de mucosite nos dias 8 e 10 enquanto os grupos IV e V foi no dia 6. Segundo o desvio padrão o grau de mucosite varia de 0,4 a 1,0 unidade nos dias avaliados.

Tabela 11 - Medidas descritivas do escore por dia de avaliação segundo o grupo de estudo

	N	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio-padrão
Grupo I						
DIA 3	10	0	0	0	0,0	0,0
DIA 6	10	2	3	3	2,6	0,5
DIA 8	10	1	5	5	3,8	1,5
DIA 10	10	0	5	5	3,8	2,0
DIA 12	10	0	5	3	2,7	2,0
Grupo II						
DIA 3	10	0	0	0	0,0	0,0
DIA 6	10	0	4	2	2,0	1,2
DIA 8	10	0	4	2	1,9	1,4
DIA 10	10	2	3	3	2,8	0,4
DIA 12	10	1	3	2	2,2	0,8
Grupo III						
DIA 3	10	0	0	0	0,0	0,0
DIA 6	10	2	4	3	3,0	0,5
DIA 8	10	3	5	5	4,3	0,9
DIA 10	10	1	4	4	3,0	1,4
DIA 12	10	1	3	2	1,8	0,8
Grupo IV						
DIA 3	12	0	0	0	0,0	0,0
DIA 6	12	1	4	3	3,2	0,9
DIA 8	12	1	4	3	2,6	0,9
DIA 10	12	0	3	3	2,3	1,1
DIA 12	12	0	3	1	1,4	1,0
Grupo V						
DIA 3	19	0	0	0	0,0	0,0
DIA 6	19	2	5	5	4,3	1,0
DIA 8	19	2	5	4	4,1	1,0
DIA 10	19	1	5	4	3,3	1,4
DIA 12	19	1	5	4	3,6	1,5

No Gráfico 1 estão representados o valor médio do grau de mucosite em cada um dos grupos analisados. Os grupos I, III e V atingem, aproximadamente, o mesmo valor médio, mas decrescem de maneiras diferenciadas. O grupo I vai caindo aos poucos enquanto o grupo III tem uma queda mais acelerada e o grupo V diminui pouco o grau de mucosite e acaba se estabilizando entre o dia 10 e o dia 12.

Os grupos II e IV, em média, apresentaram grau 3 de mucosite nos dias 10 e 6, respectivamente. Mas o grupo IV, dentre todos, foi o que apresentou melhora mais expressiva.

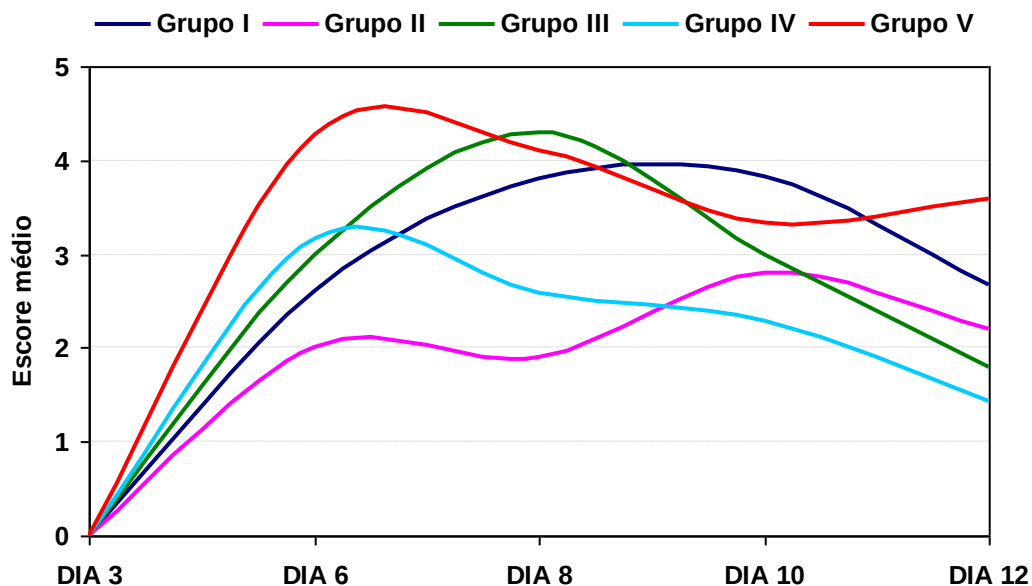


GRÁFICO 1 - Grau médio de mucosite por dia avaliado segundo o grupo de estudo

O nível de significância utilizado em todos os testes realizados neste trabalho foi de 5% ($p\text{-valor} < 0,05$).

Para avaliar a evolução dos valores dos escores da mucosite entre os dias avaliados, dentro de cada um dos grupos, utilizou-se o teste de Wilcoxon que verifica se o aumento ou a diminuição do grau da mucosite ao longo dos dias é estatisticamente significativo.

Em todos os grupos houve aumento do grau de mucosite quando se compara o dia 3 com os demais, isso ocorre pois o grau verificado no dia 3 é 0, então qualquer alteração no grau será significativa.

Houve aumento significativo do grau da mucosite no grupo I quando comparados o dia 3 com os demais dias avaliados. Do dia 6 para o 8, mesmo que 20% dos animais tenham diminuído o grau e 10% mantido o mesmo grau, a diferença ainda é significativa. Nas outras comparações as mudanças não foram significativas (Tabela 12).

Tabela 12 - Evolução do grau da mucosite por dia no grupo I

	Grau da mucosite			p-valor
	Diminui	Aumenta	Não muda	
DIA 3 - DIA 6	-	100,0%	-	0,004*
DIA 6 - DIA 8	20,0%	70,0%	10,0%	0,025*
DIA 8 - DIA 10	33,3%	16,7%	50,0%	1,000
DIA 10 - DIA 12	66,7%	-	33,3%	0,066

* Estatisticamente significativo ($p\text{-valor} < 0,05$)

No grupo II só foi verificado aumento significativo do grau de mucosite quando são comparados os escores do dia 3 com o dia 6. Do dia 3 para o dia 6, 10% dos animais estudados não apresentaram mudança no escore. Do dia 6 para o dia 8, 70% não mudou e do dia 8 para o dia 10, 40% diminuiu o valor do escore (Tabela 13).

Tabela 13 - Evolução do grau da mucosite por dia no grupo II

	Grau da mucosite			p-valor
	Diminui	Aumenta	Não muda	
DIA 3 - DIA 6	-	90,0%	10,0%	0,007*
DIA 6 - DIA 8	20,0%	10,0%	70,0%	0,785
DIA 8 - DIA 10	40,0%	40,0%	20,0%	0,705
DIA 10 - DIA 12	40,0%	-	60,0%	0,180

* Estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

No grupo III do dia 6 para o dia 8, 30% dos animais mantiveram o grau do dia 6 e 70% piorou a mucosite. A melhora ocorreu do dia 8 para o dia 10, onde 80% dos animais apresentaram diminuição do grau de mucosite (Tabela 14).

Tabela 14 - Evolução do grau da mucosite por dia no grupo III

	Grau da mucosite			p-valor
	Diminui	Aumenta	Não muda	
DIA 3 - DIA 6	-	100,0%	-	0,003*
DIA 6 - DIA 8	-	70,0%	30,0%	0,016*
DIA 8 - DIA 10	80,0%	-	20,0%	0,059
DIA 10 - DIA 12	80,0%	-	20,0%	0,063

* Estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

No grupo IV as mudanças foram significativas do dia 3 ao dia 10. Do dia 6 para o dia 8 houve melhora na mucosite em 50% dos animais. Dos outros 50% que não haviam apresentado mudança 7,1% diminui do dia 8 para o dia 10, ou seja, só houve piora no grau da mucosite do dia 6 para o dia 8, após o dia 8 a mucosite regrediu ou permaneceu no mesmo grau.

Tabela 15 - Evolução do grau da mucosite por dia no grupo IV

	Grau da mucosite			p-valor
	Diminui	Aumenta	Não muda	
DIA 3 - DIA 6	0,0%	100,0%	0,0%	0,002*
DIA 6 - DIA 8	50,0%	0,0%	50,0%	0,020*
DIA 8 - DIA 10	57,1%	0,0%	42,9%	0,046*
DIA 10 - DIA 12	57,1%	0,0%	42,9%	0,063

* Estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

No grupo V o aumento do grau da mucosite do dia 3 para o dia 6 foi elevado, onde 73,6% dos animais tinha grau maior que 4 . Do

dia 6 para o dia 8, 78,9% permaneceu com o grau elevado, que teve pequena melhora nos dias seguintes.

Tabela 16 - Evolução do grau da mucosite por dia no grupo V

	Grau da mucosite			p-valor
	Diminui	Aumenta	Não muda	
DIA 3 - DIA 6	-	100,0%	-	0,000*
DIA 6 - DIA 8	15,8%	5,3%	78,9%	0,257
DIA 8 - DIA 10	44,4%	22,2%	33,3%	0,589
DIA 10 - DIA 12	40,0%	-	60,0%	0,157

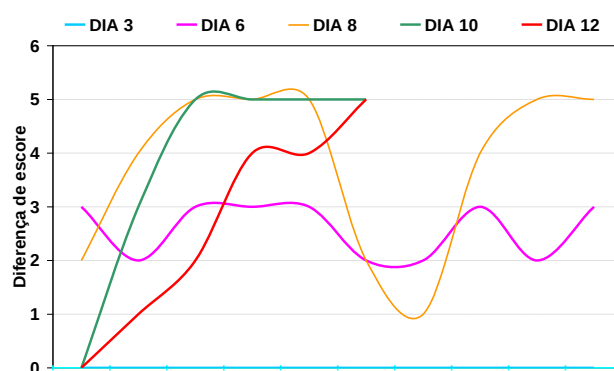
* Estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

As comparações feitas dentro de cada grupo mostraram que as mudanças ocorrem do dia 3 para o dia 6, onde há elevação do grau da mucosite em todos os grupos.

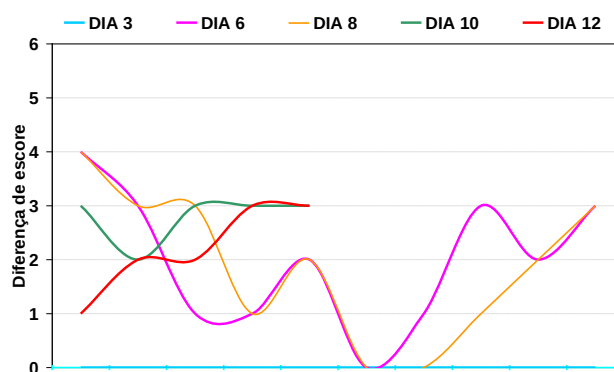
Do dia 6 para o dia 8, os grupos I e III tiveram piora na mucosite enquanto que o grupo IV teve diminuição do grau de mucosite, ou seja, a melhora da mucosite no grupo IV é mais rápida e significativa ao longo do período experimental quando comparada aos demais grupos (Tabelas 15 e 16).

Os Gráficos abaixo representam o grau de mucosite no dia avaliado em cada grupo de estudo.

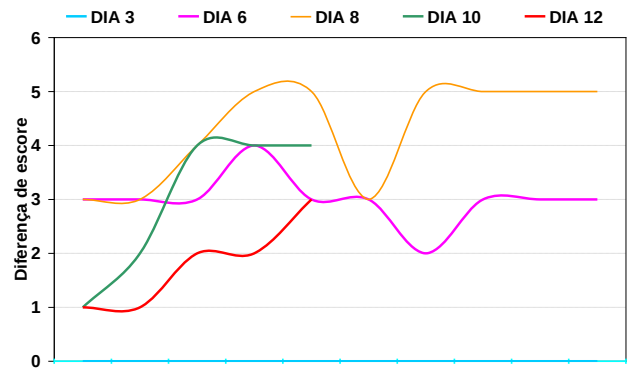
GRUPO I



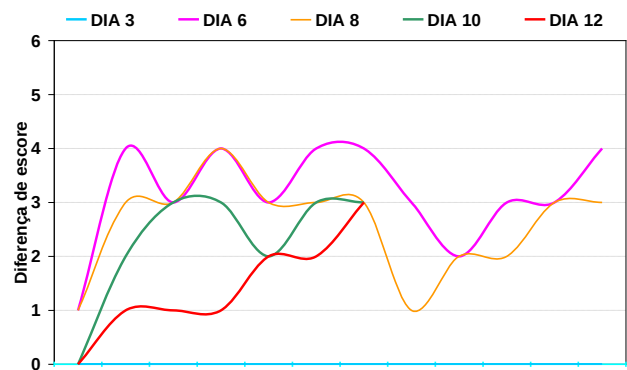
GRUPO II



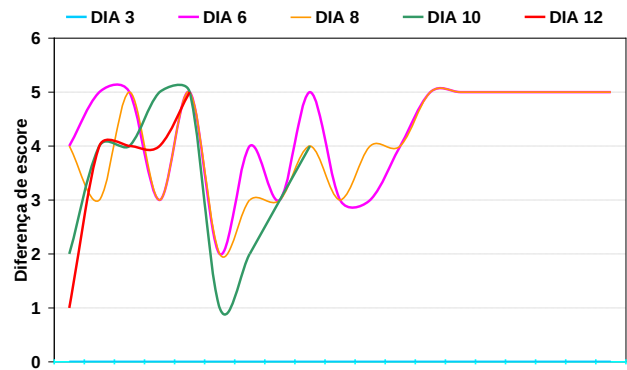
GRUPO III



GRUPO IV



GRUPO V



Os grupos II e IV apresentam maior homogeneidade com relação à variação do grau de mucosite, os animais aumentam de 1 a 4 graus do dia 3 ao 6 e a partir daí começam a melhorar a mucosite até chegar no dia 12, ao contrário dos grupos I, III e V que do dia 6 para o dia 8 ainda pioram o grau da mucosite. No geral, não há diferença significativa entre o grau de mucosite nos dias analisados dentro de um mesmo grupo. Somente o grupo IV mostrou diferenças significativas no grau durante os dias.

Comparações entre os grupos em cada dia avaliado

Para comparar os escores da mucosite entre os grupos estudados utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis que verifica se as medidas dos escores são iguais nos grupos (Tabela 17).

Houve diferença significativa no grau da mucosite entre os grupos nos dias 6 e 8, onde a mucosite teve piora mais expressiva no dia 8, ou seja, aumentou o grau nesse dia.

Tabela 17 - Teste de Kruskal-Wallis para avaliação do grau da mucosite entre os grupos de estudo

	Posto médio					p-valor
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V	
DIA 3	31,0	31,0	31,0	31,0	31,0	1,000
DIA 6	20,5	16,0	27,6	31,5	45,9	0,000*
DIA 8	35,9	14,3	41,7	19,5	38,9	0,000*
DIA 10	22,5	13,9	16,3	11,2	18,2	0,229
DIA 12	16,3	14,7	12,1	9,8	21,2	0,157

* Estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

Para verificar qual dos grupos que diferem nos dias 6 e 8 e qual o tamanho dessa diferença utilizou-se o teste T de Student, pois os valores dos escores do dia 6 e 8 tem distribuição normal comprovada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov onde p-valor = 0,005 para o dia 6 e p-valor = 0,022 para o dia 8.

A Tabela 18 contém os grupos que apresentaram diferença nesses dias, a significância e qual a diferença média no valor do grau da mucosite. As comparações que não foram citadas na tabela não foram significativas, significa dizer que a intensidade do laser utilizada em cada um dos grupos (que não apresentaram diferenças significativas no grau da mucosite) não influenciou na melhora da mucosite

Tabela 18 - Teste T de student para avaliação do grau da mucosite entre os grupos de estudo

Comparação entre os grupos	Diferença	Grau de mucosite	p-valor
Grupo I - Grupo V	Dia 6	Grupo V tem 1,6 graus a mais	0,000*
Grupo II - Grupo III	Dia 6	Grupo III tem 1 grau a mais	0,036*
Grupo II - Grupo IV	Dia 6	Grupo IV tem 1 grau a mais	0,021*
Grupo II - Grupo V	Dia 6	Grupo V tem 2 graus a mais	0,000
Grupo III - Grupo V	Dia 6	Grupo V tem 1 grau a mais	0,001*
Grupo IV - Grupo V	Dia 6	Grupo V tem 1 grau a mais	0,005*
Grupo I - Grupo II	Dia 8	Grupo II tem 2 graus a mais	0,009*
Grupo I - Grupo IV	Dia 8	Grupo IV tem 1 grau a mais	0,032*
Grupo II - Grupo III	Dia 8	Grupo III tem 2 graus a mais	0,000*
Grupo II - Grupo V	Dia 8	Grupo V tem 2 graus a mais	0,000*
Grupo III - Grupo IV	Dia 8	Grupo IV tem 2 graus a menos	0,000*
Grupo IV - Grupo V	Dia 8	Grupo V tem 2 graus a mais	0,000*

* Estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

No dia 6, o grupo V apresentou grau de mucosite maior em 1,6 unidades que o grau do grupo I, 2 graus maior que o grupo II, 1 grau maior que o grupo III e o grupo IV. Ou seja, o laser aplicado nos grupos de I a IV reduziu o grau de mucosite quando comparado ao grupo V, que não recebeu nenhum tratamento. A melhor intensidade de laser foi a do grupo II (12J/cm²) que diminuiu em 2 graus a mucosite em relação ao grupo V (controle) no dia 6.

Ainda no dia 6 foi verificada mudança significativa no grau da mucosite no grupo II em relação ao III e IV, que estavam um grau maior. Novamente a intensidade de laser utilizada no grupo 2 reduziu o

grau de mucosite, no dia 6, em 1 unidade em relação aos animais do grupo III e IV que receberam maior intensidade do laser.

Analisando o dia 8 verifica-se que o grau de mucosite no grupo V é maior em duas unidades do que nos grupos II e IV que foram tratados com laser. O grupo I apresentou menor grau de mucosite em relação aos grupos II e IV que tinham nesse dia grau maior em 2 e 1 unidades, respectivamente, pode-se dizer que o laser aplicado no grupo I ($4\text{J}/\text{cm}^2$) foi mais eficiente na melhora da mucosite a partir do dia 8 em relação aos dois grupos citados.

O grupo III tem 2 graus a mais que o grupo II e IV nesse dia, a intensidade do laser do grupo III não foi tão eficiente quanto dos outros.

Pode-se afirmar que o tratamento com LILT teve influência na redução do grau da mucosite durante os dias analisados e que a intensidade de energia aplicada no grupo II mostrou-se melhor em relação aos outros, pois mostrou redução na mucosite a partir do dia 6. Se considerarmos o dia 8, todas as intensidades foram benéficas, com maior melhora na ordem: grupo I, IV, II e V.

Nas Figuras 7, 9, 11, 13 e 15 observa-se a média da mucosite ao longo do experimento, nos cinco grupos.

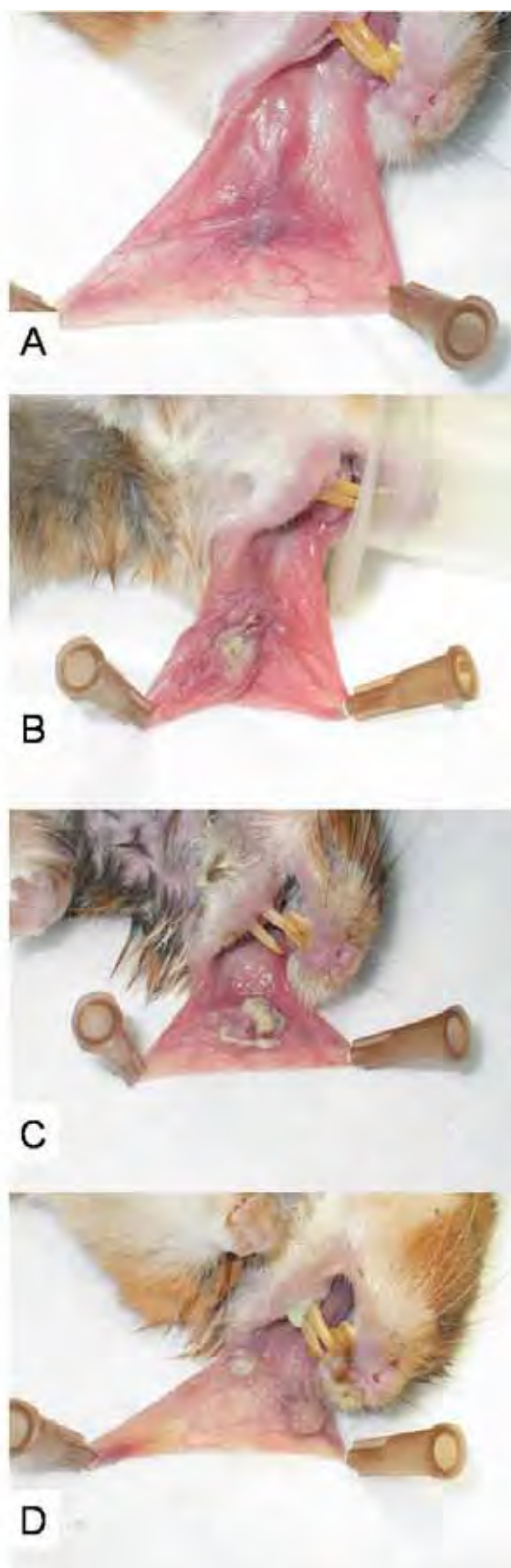


FIGURA 7

Médias da severidade da mucosite no Grupo I (4J/cm²), ao longo do experimento

- A. Dia 6, mucosite grau 3
- B. Dia 8, mucosite grau 4
- C. Dia 10, mucosite grau 4
- D. Dia 12, mucosite grau 3

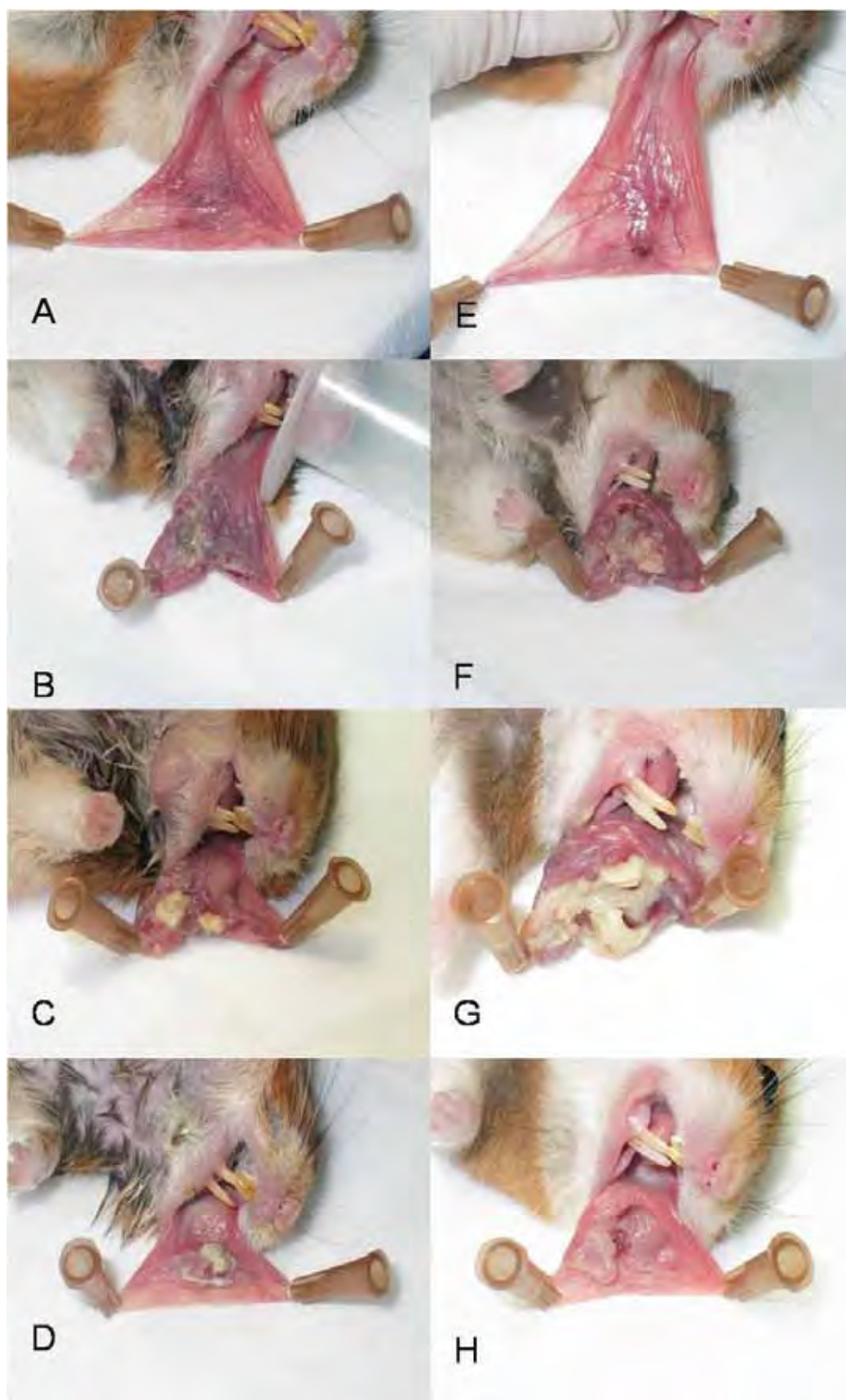


FIGURA 8

Evolução da severidade da mucosite no Grupo I (4J/cm²)

- A. Dia 6, mucosite grau 3
- B. Dia 8, mucosite grau 5
- C. Dia 10, mucosite grau 5
- D. Dia 12, mucosite grau 4
- E. Dia 6, mucosite grau 3
- F. Dia 8, mucosite grau 5
- G. Dia 10, mucosite grau 5
- H. Dia 12, mucosite grau 4

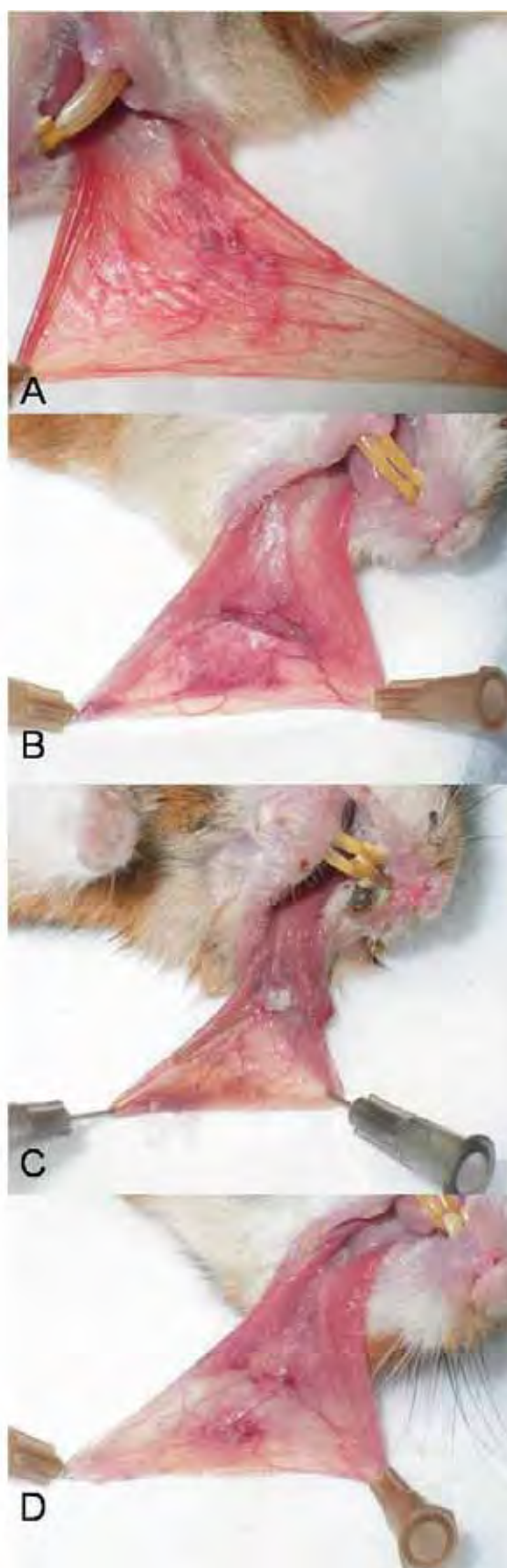


FIGURA 9

Médias da severidade da mucosite no Grupo II (12 J/cm²), ao longo do experimento

- A. Dia 6, mucosite grau 2
- B. Dia 8, mucosite grau 2
- C. Dia 10, mucosite grau 3
- D. Dia 12, mucosite grau 2



A



B



C



D

FIGURA 10**Evolução da severidade da mucosite no Grupo II (12J/cm²)**

- A. Dia 6, mucosite grau 3
- B. Dia 8, mucosite grau 4
- C. Dia 10, mucosite grau 4
- D. Dia 12, mucosite grau 3

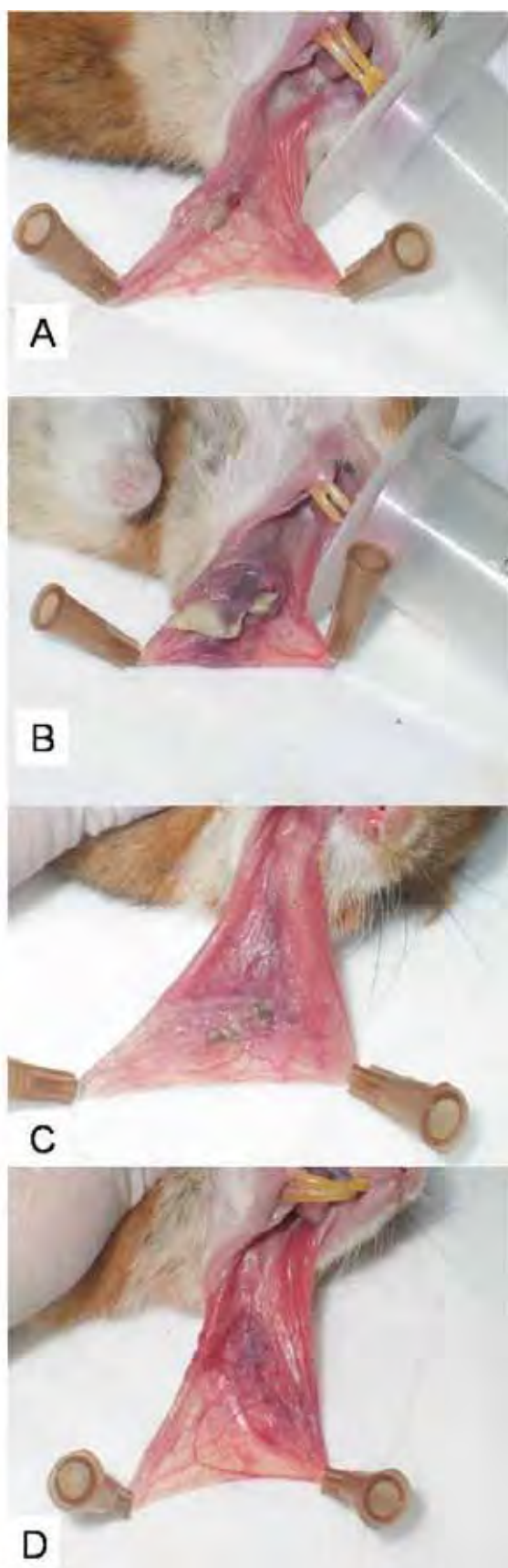


FIGURA 11

Médias da severidade da mucosite no Grupo III (35J/cm²), ao longo do experimento

- A. Dia 6, mucosite grau 3
- B. Dia 8, mucosite grau 4
- C. Dia 10, mucosite grau 3
- D. Dia 12, mucosite grau 2

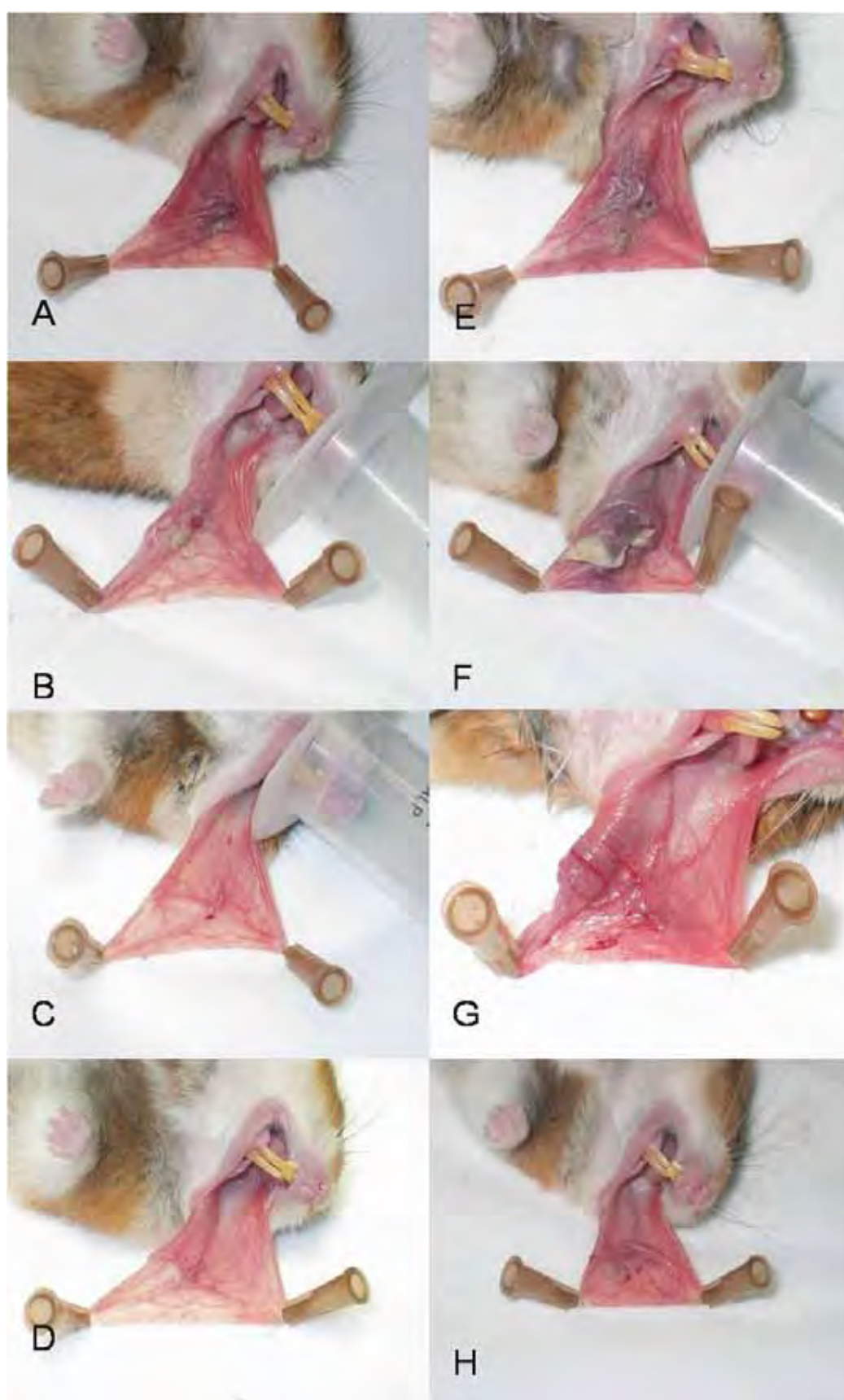


FIGURA 12**Evolução da severidade da mucosite no Grupo III (35J/cm²)**

- A. Dia 6, mucosite grau 3
- B. Dia 8, mucosite grau 3
- C. Dia 10, mucosite grau 2
- D. Dia 12, mucosite grau 1
- E. Dia 6, grau 4
- F. Dia 8, grau 4
- G. Dia 10, grau 4
- H. Dia 12, grau 3

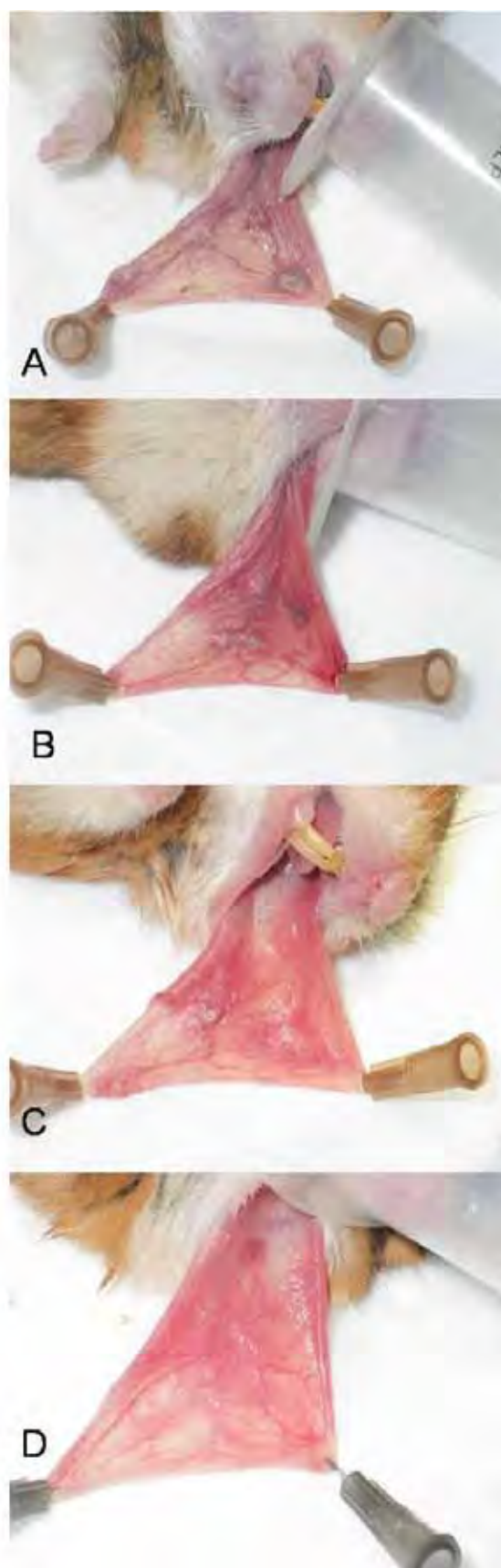


FIGURA 13

Médias da severidade da mucosite no Grupo IV (72 J/cm²), ao longo do experimento

- A. Dia 6, mucosite grau 3
- B. Dia 8, mucosite grau 3
- C. Dia 10, mucosite grau 2
- D. Dia 12, mucosite grau 1

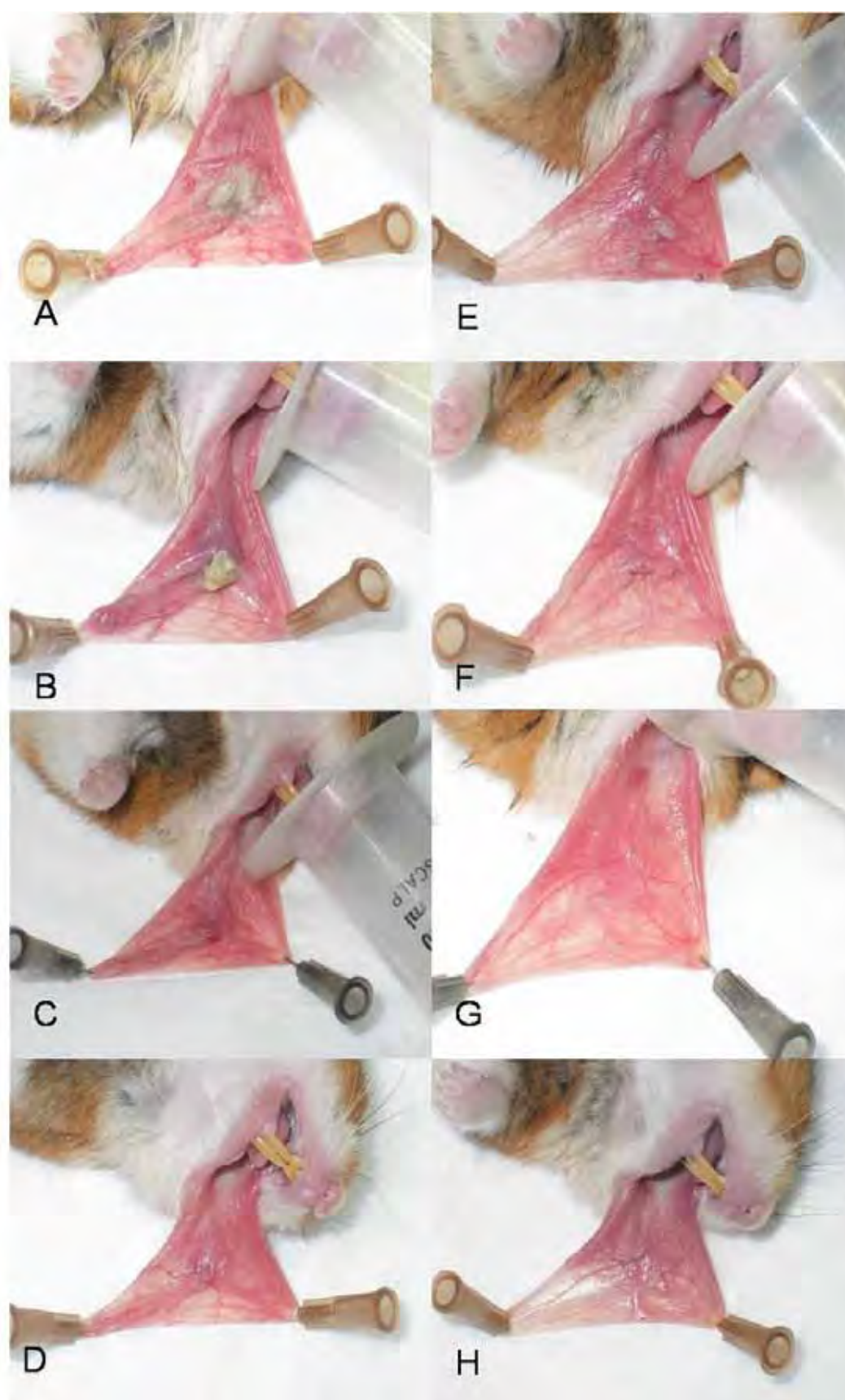


FIGURA 14**Evolução da severidade da mucosite no Grupo IV (72J/cm²)**

- A. Dia 6, mucosite grau 4
- B. Dia 8, mucosite grau 3
- C. Dia 10, mucosite grau 2
- D. Dia 12, mucosite grau 1
- E. Dia 6, grau 3
- F. Dia 8, grau 3
- G. Dia 10, grau 1
- H. Dia 12, grau 0

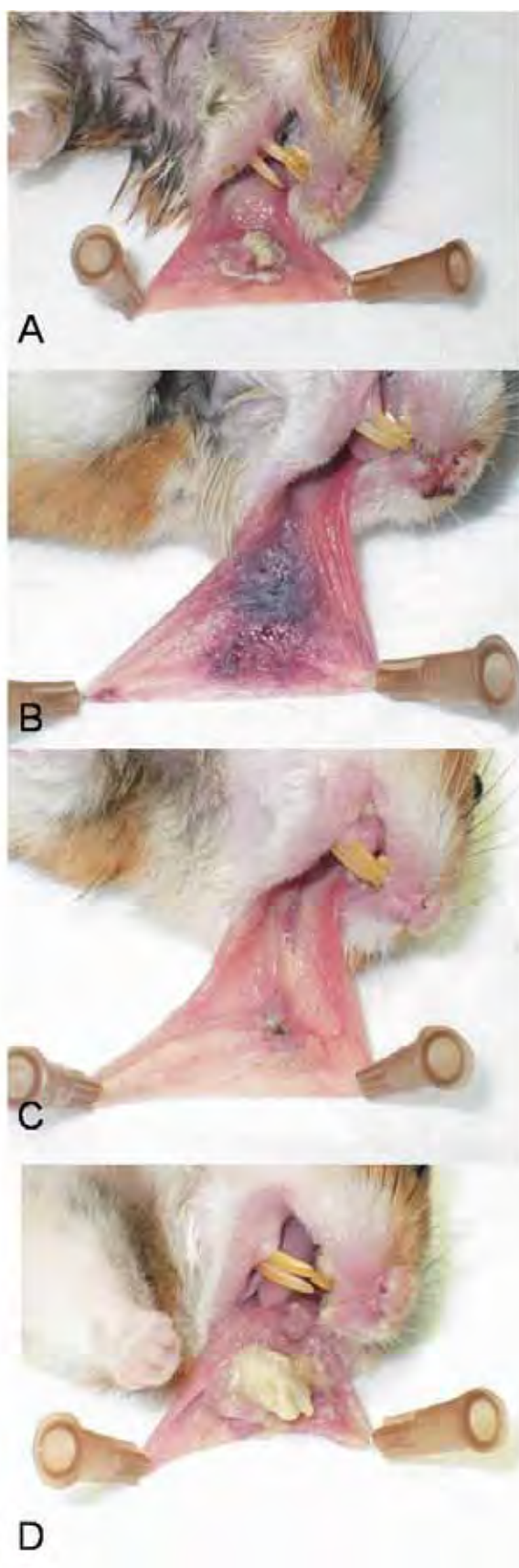


FIGURA 15

Médias da severidade da mucosite no Grupo V, ao longo do experimento

- A. Dia 6, mucosite grau 4
- B. Dia 8, mucosite grau 4
- C. Dia 10, mucosite grau 3
- D. Dia 12, mucosite grau 4

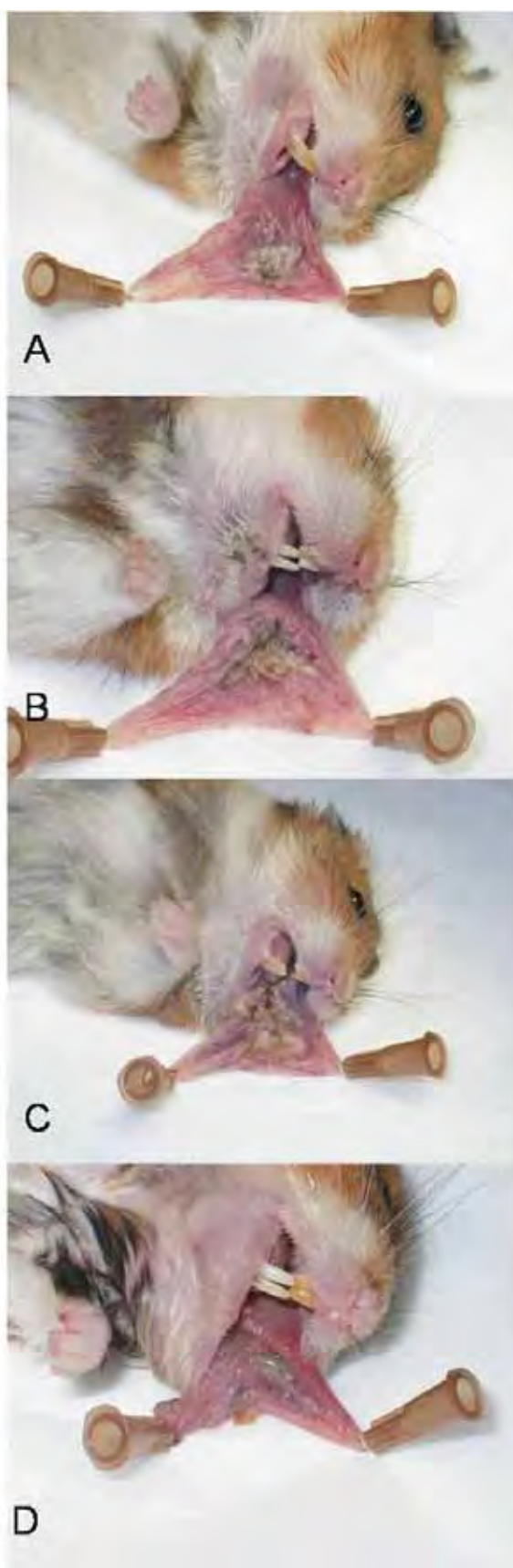


FIGURA 16

Evolução da severidade da mucosite no Grupo V (controle)

- A. Dia 6, mucosite grau 5
- B. Dia 8, mucosite grau 5
- C. Dia 10, mucosite grau 5
- D. Dia 12, mucosite grau 5

5.2 Avaliação histopatológica da mucosite

As características do tecido foram analisadas de maneira comparativa, de acordo com a intensidade da reação inflamatória. O material foi classificado em escores (Anexo 3 e Tabela 3) por um único examinador e de maneira cega.

Nos dias 8 e 12 foi realizado o exame histopatológico da amostra da mucosa bucal dos animais. A Tabela 19 representa as frequências e percentuais de cada escore encontrado no exame em cada um dos grupos de estudo.

A maioria dos animais (45,5%) ao final do dia 8 apresentaram escore 3 da mucosite enquanto que no dia 12, 38,1% deles estavam com escore 1 e 33,3% com escore 2.

O grupo com menor grau de mucosite no dia 8 foi o IV, onde 100,0% dos animais examinados tinham escore 1 de mucosite. O grupo I também apresentou 75% dos animais com escore 2 de mucosite. Os grupos II e III tiveram a maioria no grau 3 (75% e 60%, respectivamente).

No dia 12 todos os grupos apresentaram animais com escore menor ou igual a 2, somente o grupo 5 apresentou escore 4. Ao final do período de estudo os 4 grupos tratados com laser tiveram melhora

significativa no escore da mucosite, conforme confirmação pela análise clínica.

Tabela 19 - Frequência do grau da mucosite no exame histopatológico por grupo de estudo

Escore	Grupo										Total	
	Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV		Grupo V			
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Dia 8												
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	1	25,0	-	-	5	100,0	-	-	6	27,3
2	3	75,0	-	-	1	20,0	-	-	-	-	4	18,2
3	1	25,0	3	75,0	3	60,0	-	-	3	75,0	10	45,5
4	-	-	-	-	1	20,0	-	-	1	25,0	2	9,1
Total	4	100,0	4	100,0	5	100,0	5	100,0	4	100,0	22	100,0
Dia 12												
0	-	-	1	25,0	1	20,0	-	-	-	-	2	9,5
1	4	100,0	-	-	3	60,0	1	25,0	-	-	8	38,1
2	-	-	3	75,0	1	20,0	3	75,0	-	-	7	33,3
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	4	100,0	4	19,0
Total	4	100,0	4	100,0	5	100,0	4	100,0	4	100,0	21	100,0

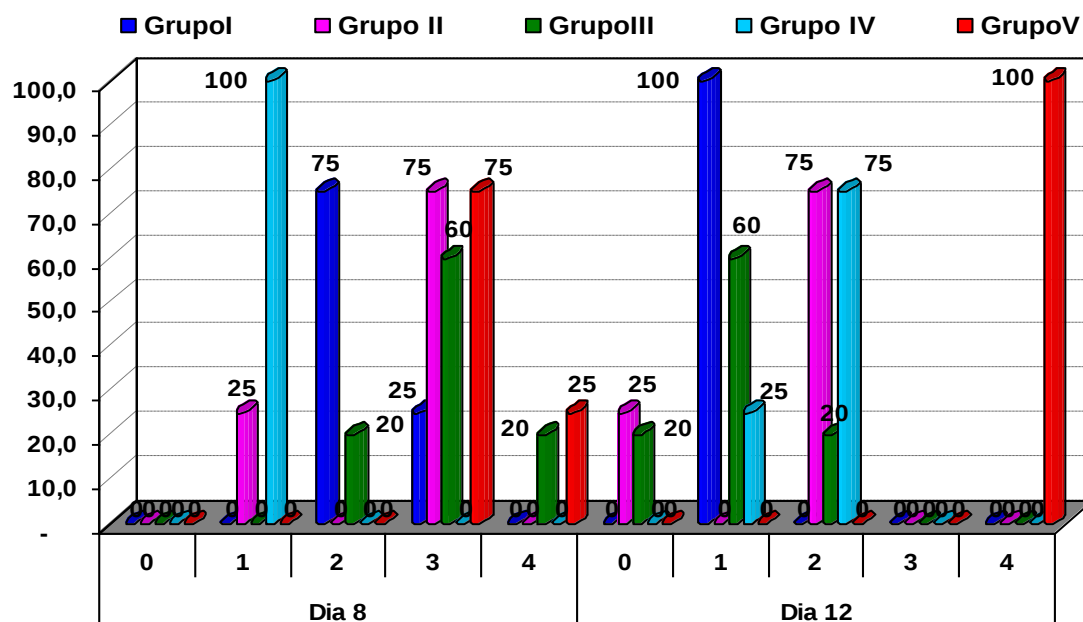


GRÁFICO 7 - Percentual do grau da mucosite no exame histopatológico por grupo de estudo

Para confirmar se houve diferença estatisticamente significativa utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis e em seguida o teste de Mann-Whitney para verificar quais grupos diferem.

Pelo Kruskal-Wallis houve diferença significativa entre os grupos em relação ao valor do grau de mucosite verificado no exame histopatológico (p-valor=0,001).

Pelo Mann-Whitney verificou-se que os grupos I a IV não diferem entre si em relação ao grau de mucosite no histopatológico, ou seja, estatisticamente eles apresentam o mesmo grau no dia 8 e no final do período. Houve diferença no grau da mucosite ao comparar o grupo V com os demais.

Como na análise clínica, as diferenças ocorreram em relação ao grupo V que apresenta maior grau de mucosite em relação aos grupos tratados com laser (Tabelas 19 e 20).

Tabela 20 - Teste Mann-Whitney para avaliação do grau da mucosite entre os grupos de estudo

Comparação entre os grupos	Diferença	Grau de mucosite	p-valor
Grupo I - Grupo V	Dia 8/12	Grupo V tem 2 graus a mais	0,001*
Grupo II - Grupo V	Dia 8/12	Grupo V tem 1,6 graus a mais	0,003
Grupo III - Grupo V	Dia 8/12	Grupo V tem 1,6 graus a mais	0,006*
Grupo IV - Grupo V	Dia 8/12	Grupo V tem 2,3 graus a mais	0,000*

* Estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

As Figuras 17 a 21 ilustram e descrevem as características histológicas nos cinco grupos estudados, ao longo do experimento.

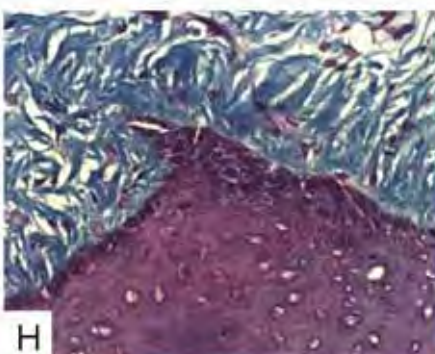
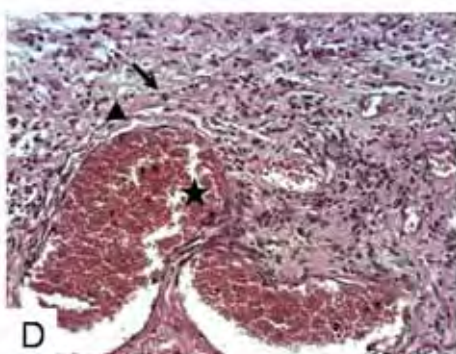
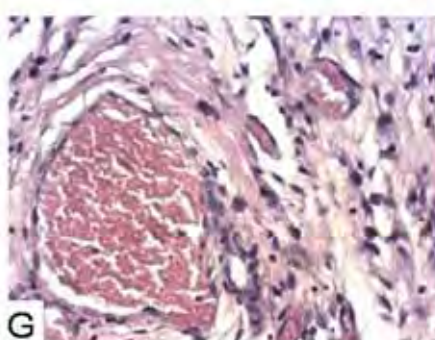
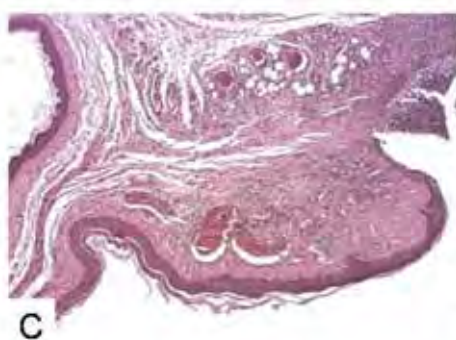
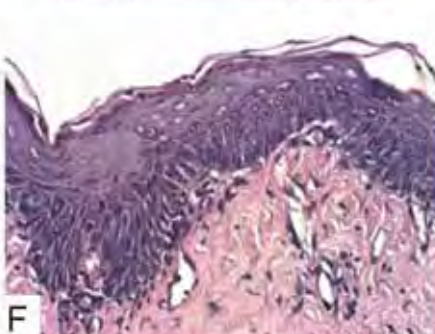
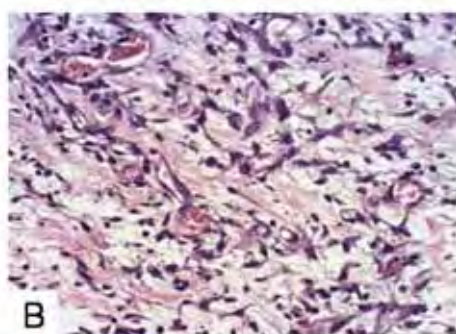
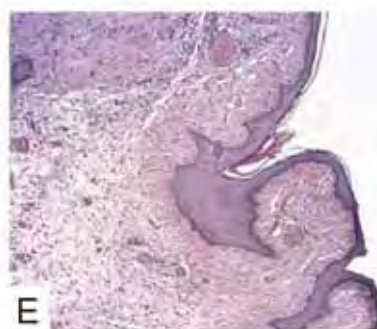
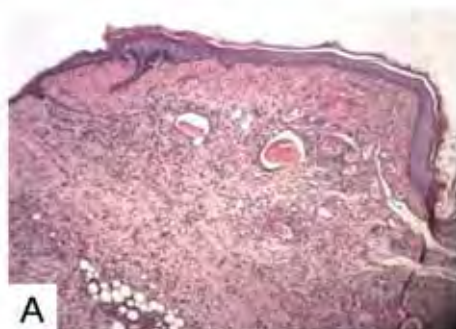


FIGURA 17**Classificação histopatológica da mucosite no Grupo I (4J/cm²)**

- A. Tecido conjuntivo com infiltrado de células inflamatórias localizado na submucosa. Observa-se também acantose epitelial. DIA 8. Escore 2. H/E, 63x.
- B. Na região da submucosa observa-se PMN e outros leucócitos em meio a fibroblastos, macrófagos e muitos capilares sanguíneos. DIA 8. Escore 2. H/E, 400x
- C. Visão geral da ruptura epitelial e exposição do tecido conjuntivo, que encontra-se recoberto por tampão amorfo. DIA 8. Escore 3. H/E, 63x.
- D. Detalhe do tecido conjuntivo que apresenta hiperemia vascular, diminuição da velocidade do fluxo e marginação leucocitária () nos capilares. Entre as células residentes há grande número de macrófagos (setas) e a substância intercelular fibrosa e pouco evidente, constituída por uma malha delicada de fibrilas colágenas (). DIA 8. Escore 3. H/E, 400x.
- A. Visão geral da mucosa. O Epitélio está refeito, constituído por diversas camadas de queratinócitos recobertos por placas de queratina. DIA 12. Escore 1. H/E, 63x.
- B. As camadas superficiais de células epiteliais contêm grânulos de querato-hialina bem visíveis. A camada basal é constituída por grande número de figuras de mitose, sem no entanto presença de células inflamatórias nas proximidades. Observa-se tecido conjuntivo rico em fibras colágenas, células residentes, fibroblastos e macrófagos. DIA 12. Escore 1. H/E, 400x.
- C. Numa situação mais profunda o tecido conjuntivo apresenta dilatação vascular com ligeira diminuição da velocidade do fluxo sanguíneo e presença de leucócitos polimorfonucleares de maneira discreta. DIA 12. Escore 1. TM, 400x.
- D. Tecido conjuntivo com discreta quantidade de PMN em meio às células residentes do conjuntivo, local onde as fibrilas colágenas aparecem espaçadamente. Há forte presença de capilares sanguíneos. DIA 12. Escore 1. TM, 400x.

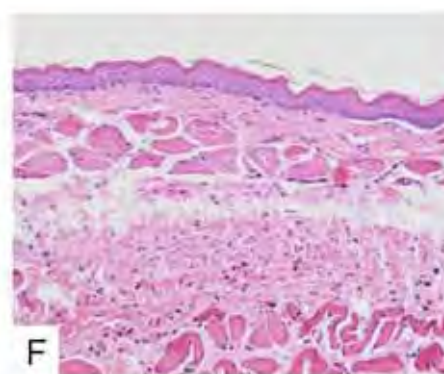
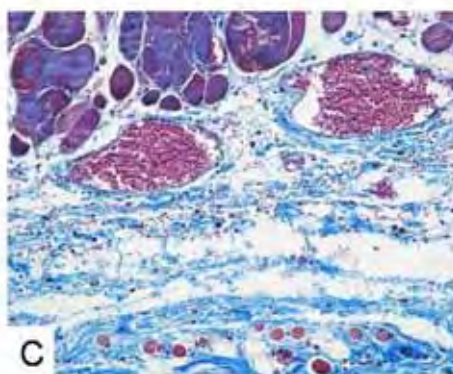
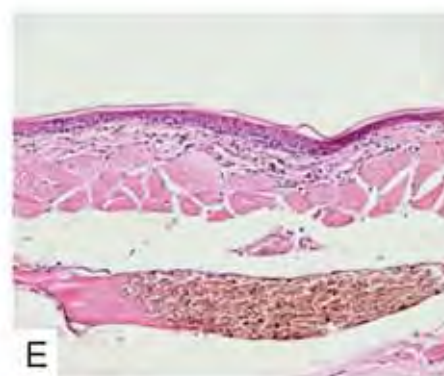
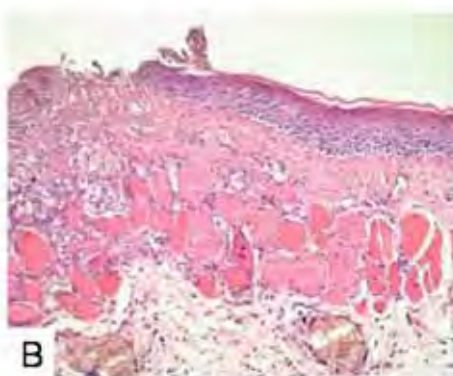
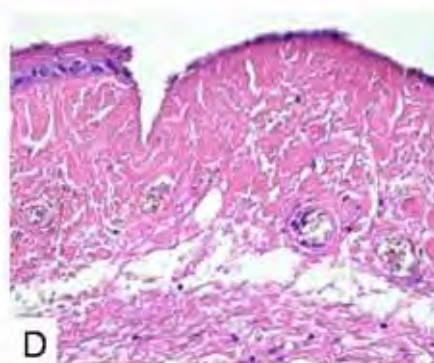
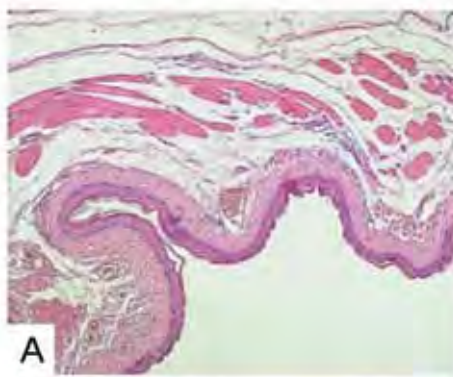


FIGURA 18**Classificação histopatológica da mucosite no Grupo II (12J/cm²)**

- A. Visão geral da mucosa. Dia 8. H/E, 63x.
- B. Detalhe de uma área ulcerada. Abaixo da área de perda do tecido epitelial há reação inflamatória moderada. Escore 3, dia 8. H/E, 125x.
- C. Observa-se tecido conjuntivo com dilatação vascular e ligeira diminuição da velocidade do fluxo sanguíneo e presença de leucócitos polimorfonucleares de maneira moderada. Escore 2, dia 8. TM, 400x.
- D. Ruptura do epitélio com exposição do tecido conjuntivo subjacente. Note a discreta desorganização tecidual na área envolvendo parte do tecido muscular. Alguns vasos sanguíneos dilatados e congestos também são observados no local. Escore 1, dia 12. H/E, 125x.
- E. Imediatamente abaixo do tecido epitelial pode-se observar discreta reação inflamatória, porém o tecido muscular subjacente não está alterado. Note um amplo vaso sanguíneo dilatado e congesto com notável quantidade de células inflamatórias no interior. Escore 1, dia 12. H/E, 100x.
- F. Tecido epitelial e conjuntivo com características histológicas de normalidade. Observa-se integridade do epitélio, sendo que o conjuntivo subjacente exibe equilíbrio entre componentes da matriz extracelular, células e estrutura muscular. Escore 0, dia 12. H/E, 200x.

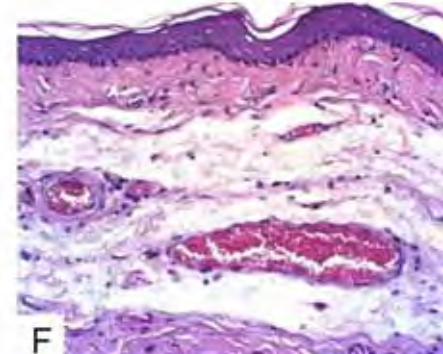
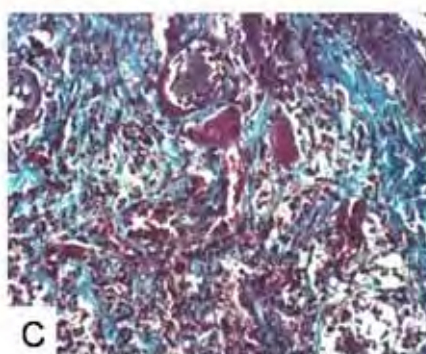
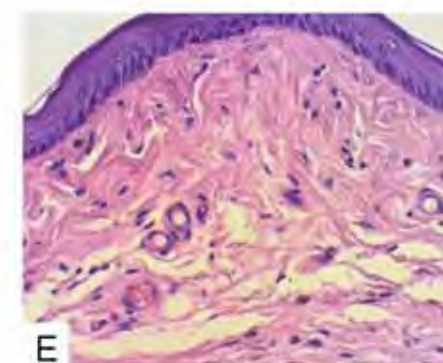
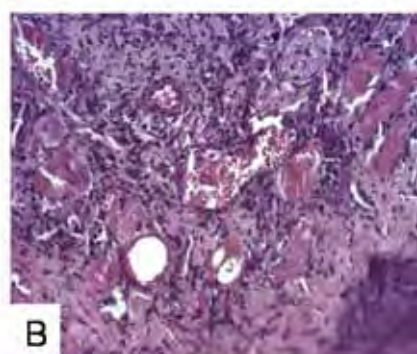
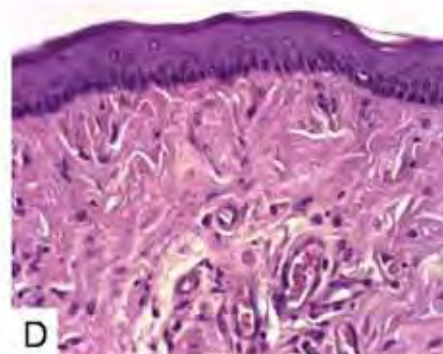
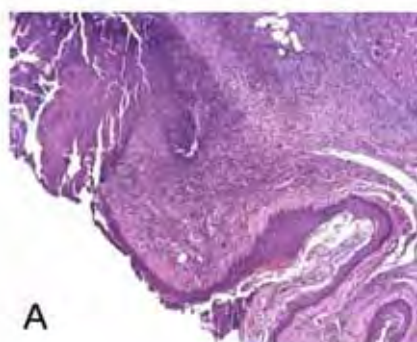


FIGURA 19**Classificação histopatológica da mucosite no Grupo III (35 J/cm²)**

- A. Visão geral da úlcera e formação epitelial nas bordas da ferida, que encontra-se recoberta por tampão amorfo com células mortas, sangue coagulado e fibrina. Dia 8. Escore 3. H/E, 63x.
- B. O tecido conjuntivo adjacente apresenta infiltrado inflamatório rico em PMN, vasos sanguíneos hiperemiados com estase e marginação leucocitária. Dia 8. Escore 3. H/E, 125x.
- C. Intenso infiltrado na lâmina cujos leucócitos estão ocupando o espaço das células residentes. Dia 8. Escore 3. TM, 400x.
- D. O tecido conjuntivo da lâmina própria encontra-se em franco processo de cicatrização com grande número de fibroblastos orientados no sentido do longo eixo da lesão, rodeados por fibrilas colágenas neoformadas. Os capilares sanguíneos estão em processo de formação. Há presença de macrófagos esparsos e ausência de inflamação. Dia 12. Escore 0. H/E, 400x.
- E. O epitélio neoformado forma elevação devido a extensa fibrose ocorrida com fibras colágenas em feixes bem estruturados. Há poucos fibroblastos e outras células residentes no local. Dia 12. Escore 0. TM, 400x.
- F. Na submucosa o tecido conjuntivo é frouxo, com fibras colágenas esparsas. Há poucas células residentes (fibroblastos e macrófagos), os vasos sanguíneos são mais exuberantes, classificados como arteríolas e vênulas. O fluxo sanguíneo é lento com hemácias na luz do vaso. Dia 12. Escore 1. H/E, 400x.

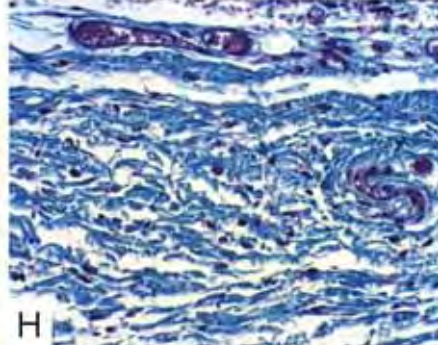
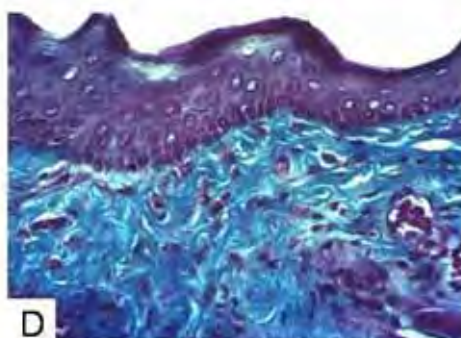
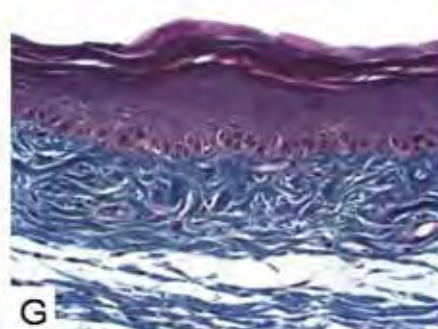
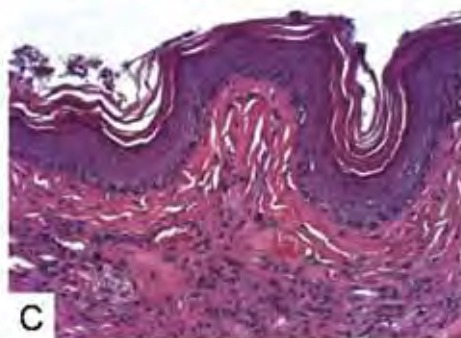
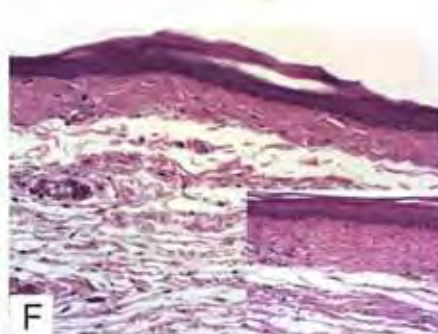
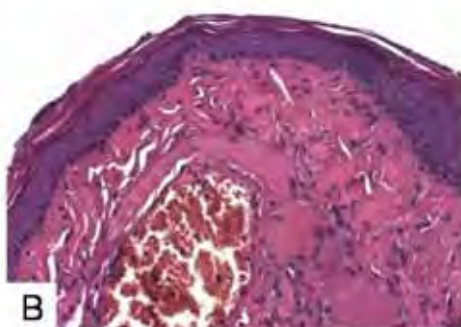
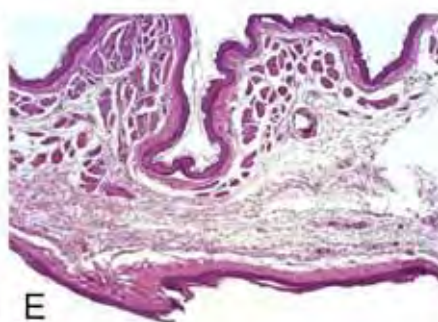
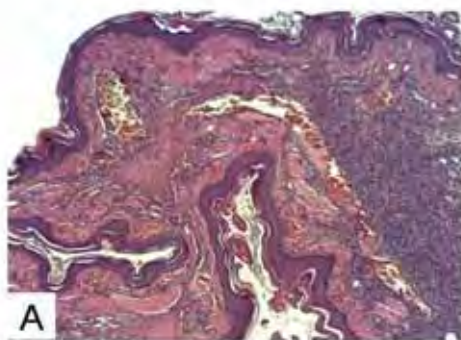


FIGURA 20**Classificação histopatológica da mucosite no Grupo IV (72 J/cm²)**

- A. Visão geral da mucosa. Dia 8. Escore 1. H/E, 63x.
- B. O epitélio neoformado que recobre a lesão é fino e apresenta poucas camadas. Na camada basal observa-se muitas figuras de mitose e a camada mais superficial é recoberta por delicadas placas de queratina. A lâmina própria encontra-se em processo de cicatrização com muitos feixes de fibras colágenas neoformadas. Há muitos capilares sanguíneos ligeiramente hipertrofiados. Há presença de PMN de maneira discreta. Dia 8. Escore 1. H/E, 400x.
- C. Observa-se elevação do epitélio devido a fibrose ocorrida na lâmina própria. Dia 8. Escore 1. TM, 400x.
- D. Pelo Tricrômico de Masson observa-se os estratos epiteliais seguidos de feixes colágenos intensamente corados em azul. As células residentes e vasos capilares ligeiramente hiperemiados. Dia 8. Escore 1. H/E, 400x.
- E. Visão geral do epitélio íntegro. Dia 12. Escore 1. H/E, 63x.
- F. O epitélio apresenta-se com poucos estratos e recoberto por placas de queratina. Não há evidência de papilas conjuntivas. A lâmina própria é densa, com feixes fibrosos e poucas células. No conjuntivo mais profundo (submucosa), as fibras são esparsas e não formam feixes e a substância intercelular amorfa se faz visível. Dia 12. Escore 2. H/E, 400x. No destaque (H/E, 125x) observa-se a relação entre o tecido da lâmina própria e o tecido da submucosa.
- G. Observa-se elevação do epitélio devido a fibrose ocorrida na lâmina própria. Dia 12. Escore 1. TM, 400x.
- H. Pelo Tricrômico de Masson observa-se os estratos epiteliais seguidos de feixes colágenos intensamente corados em azul. As células residentes e vasos capilares ligeiramente hiperemiados. Dia 12. Escore 1. H/E, 400x.

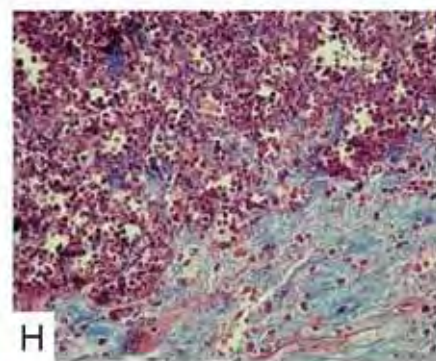
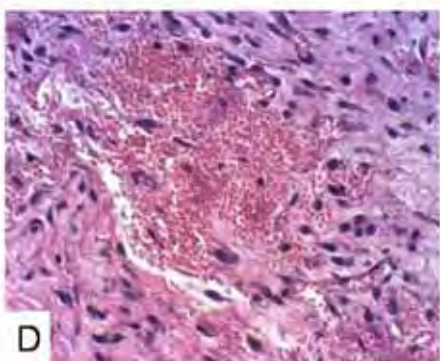
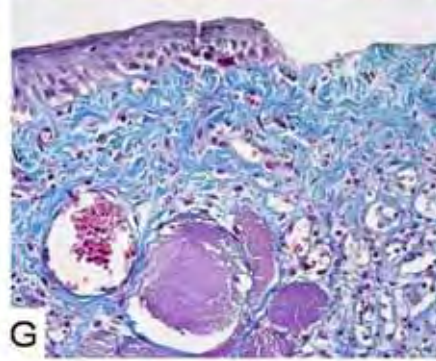
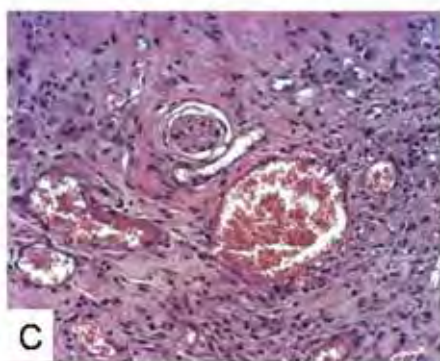
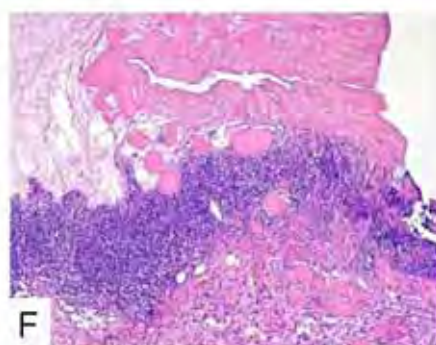
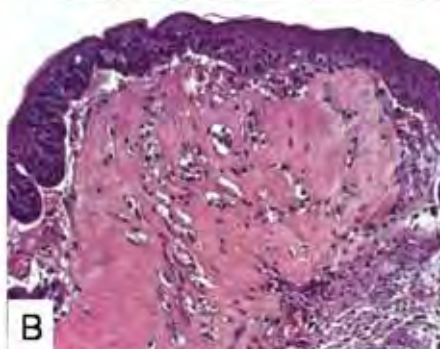
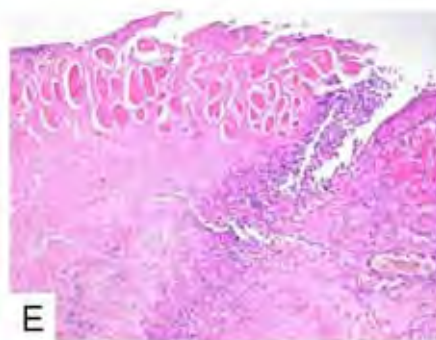
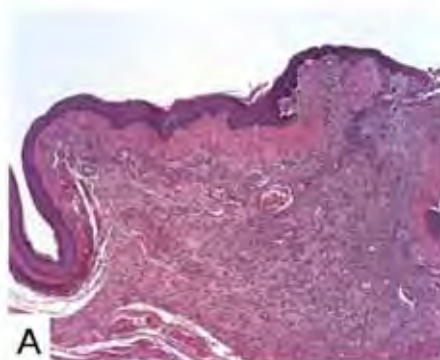
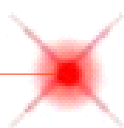


FIGURA 21

Classificação histopatológica da mucosite no Grupo controle.

- A. Visão geral do epitélio. Presença de acantose e área ulcerada. Dia 8. Escore 3. H/E, 63x.
- B. Conjuntivo profundo mostrando reação inflamatória severa. Dia 8. Escore 3. H/E, 125x.
- C. Tecido conjuntivo profundo mostrando capilares sanguíneos . Dia 8. Escore 4. TM, 400x.
- D. Presença de edema no tecido conjuntivo. Dia 8. Escore 4. H/E, 400x.
- E. Vista geral de uma área ulcerada. Abaixo da área de perda do tecido epitelial há severa reação inflamatória dispersa para áreas distantes da úlcera. Nota-se a presença de muitos vasos sanguíneos abaixo do tecido muscular, o qual está discretamente alterado. Dia 12. H/E, 125x.
- F. A camada de tecido epitelial está rompida, expondo o tecido conjuntivo subjacente, o qual exibe discreta presença de células inflamatórias mononucleares. Nota-se o amplo edema no local. Dia 12. H/E, 125x.
- G. Observa-se camada de tecido reacional presente entre a área de necrose/abscesso e o tecido conjuntivo não exposto. Há presença de severa reação inflamatória com degeneração de colágeno e tecido muscular. Dia 12. Escore 4. H/E, 125x.
- H. Tecido conjuntivo numa situação mais profunda com presença de leucócitos polimorfonucleares de maneira severa. Dia 12. Escore 3. TM, 400x.

Discussão



6 Discussão

O tratamento sistêmico contra o câncer provoca efeitos colaterais porque os medicamentos usados atingem todas as células que apresentam rápida divisão, independentemente se são células malignas ou não. A ação desses medicamentos no trato gastrointestinal frequentemente resulta em mucosite e dificulta a manutenção das funções normais ⁶⁹.

Estudos têm mostrado que a mucosite se desenvolve em 40% dos pacientes que recebem quimioterapia, 80% dos pacientes que realizam transplante de medula óssea e em 100% dos pacientes tratados com radioterapia na região de cabeça e pescoço ^{5, 64, 69, 78, 89}.

A mucosite oral é uma alteração inflamatória séria que além de provocar ulceração, resulta em dor, dificuldade de manutenção da higiene bucal, deglutição e fala, facilita a instalação de infecções secundárias e pode determinar a interrupção do tratamento antineoplásico.

Ainda não existem protocolos estabelecidos e recomendações específicas para tratar a mucosite bucal e prevenir seu desenvolvimento e as intervenções disponíveis buscam controlar os sintomas e as complicações decorrentes dessa alteração ^{5, 7, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 45, 47, 84, 99, 102, 105, 106, 107}.

Os efeitos terapêuticos do LILT começaram a ser investigados por Mester⁶⁵ em 1966 e desde então muitos experimentos mostraram a sua efetividade para estimular o processo de cicatrização, para mediação do processo inflamatório e da dor.

A utilização do LILT no tratamento da mucosite ainda não está bem estabelecida, uma vez que existem poucos estudos na literatura e os parâmetros a serem utilizados variam nas pesquisas encontradas.

Ainda não existem recomendações definidas em relação à melhor densidade de energia, embora a maioria dos trabalhos afirme que o laser é um método seguro e eficiente para controle da dor e tratamento da mucosite^{69, 104, 111}.

Além disso, existem poucos estudos em animais de laboratório, o que é fundamental para o entendimento do papel do laser nos tecidos bucais e na prevenção e redução da severidade da mucosite³⁵.

Na literatura não existe uma padronização da densidade de energia ideal a ser utilizada para o tratamento da mucosite³⁰, podendo ser encontradas doses de 1 J/cm² até 72 J/cm². Apesar dessa variação, os benefícios na redução da mucosite foram semelhantes nos estudos realizados.

No presente estudo, os grupos tratados com laser de baixa intensidade, independentemente das doses utilizadas,

desenvolveram mucosite menos severa quando comparados ao grupo controle.

A utilização do laser de baixa intensidade apresentou resultados positivos no presente estudo e representa mais uma alternativa terapêutica a ser empregada para reduzir a severidade da mucosite e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

Apesar da importância clínica dessa complicação, poucos estudos têm sido feitos com o objetivo de replicar a mucosite em animais de laboratório para testar tratamentos capazes de prevenir e reduzir sua severidade^{17,18, 19, 62, 67, 88, 86, 91, 91, 92, 94, 95, 99}, sendo que a efetividade do laser de baixa intensidade foi avaliada apenas no trabalho de França et al.³⁶, de 2008, o que representou um incentivo para a realização deste trabalho.

Optou-se por induzir mucosite em hamsters utilizando-se quimioterapia, por ser um protocolo simples, rápido e já estabelecido na literatura (Sonis et al.⁹¹, 1990). Utilizou-se o agente quimioterápico 5-fluoruracila, sendo este fármaco freqüentemente utilizado em tumores de cabeça e pescoço e em neoplasias hematológicas. A quimioterapia realizada com 5-FU tem duração prolongada, o que provoca grande toxicidade e facilita o desenvolvimento rápido de mucosite e de mielossupressão, já que o fármaco também tem ação sobre as células da medula óssea que apresentam rápida divisão celular^{12, 53, 80}.

Esses animais foram selecionados por apresentarem uma mucosa jugal volumosa e elástica, o que facilita sua observação e a realização dos procedimentos experimentais. A dose e o esquema quimioterápico apresentado foram estabelecidos a partir de observação de estudos conduzidos previamente e após a realização de estudo piloto.

A escarificação da mucosa jugal foi realizada com um dispositivo confeccionado com fio ortodôntico, com largura suficiente para arranhar a região central da mucosa (Figura 2). Encontram-se, na literatura, diversas maneiras de realizar a escarificação da mucosa, dentre elas a utilização de agulhas^{62, 91} e de fresas em baixa rotação⁶⁷. No presente estudo, considerou-se a importância da padronização da área escarificada e da força utilizada, sendo esse procedimento realizado por um único operador.

O protocolo utilizado foi bem sucedido na indução de mucosite oral em hamsters. Da mesma maneira vista em humanos, alterações na mucosa jugal dos animais puderam ser observadas entre 5 e 7 dias após a administração do agente quimioterápico e a mucosite apresentou seu pico entre os dias 8 e 12 do experimento, o que está de acordo com estudos descritos anteriormente^{30, 67, 81, 91,95}.

Os mecanismos de ação do laser terapêutico no tratamento da mucosite ainda não estão completamente esclarecidos, uma vez que existem poucos estudos na literatura (Pourreau-Schneider et al.⁷⁶, 1992; Barasch et al.¹⁰. 1995; Cowen et al.²³, 1997, Migliorati et al.⁶⁶,

2001; Bensadoun et al.¹¹, 1999; Bensadoun, Ciaï¹⁰, 2002, Van Hamme et al.¹⁰⁸, 2003) e os parâmetros a serem utilizados variam nas pesquisas encontradas ^{7, 30, 67, 78}.

A maioria dos trabalhos encontrados na literatura utilizou o laser de He-Ne para o tratamento da mucosite e encontraram resultados positivos. Em nosso estudo utilizamos o laser terapêutico contendo como meio ativo InGaAlP, que produz luz com comprimento de onda variando entre 635 e 690 nm. A luz gerada por esse tipo de emissor tem as mesmas características do laser de He-Ne, sendo que ambos trabalham com baixa intensidade de energia e apresentam as mesmas indicações: tratamento de lesões de diversas origens, regeneração nervosa e cicatrização de feridas abertas, dentre outras (Almeida-Lopes, Massini³, 2001; Eduardo et al.³², 2002; Gutknecht, Eduardo⁴³, 2004).

A escolha das densidades de energia utilizadas neste trabalho baseou-se nos achados de pesquisas conduzidas previamente e nas recomendações dadas pelo fabricante do aparelho de laser. Na literatura, não existe uma padronização da densidade de energia ideal para o tratamento da mucosite, podendo ser encontradas densidades de energia pequenas, variando de 1 J/cm² a 8 J/cm² e densidades maiores como 35 e 72J/cm². Apesar dessa variação, os benefícios na redução da mucosite foram semelhantes nos estudos realizados ^{10, 22, 108, 66}. Porém, seria importante o estabelecimento de um protocolo de uso para o laser de baixa intensidade no tratamento da mucosite.

No presente estudo, os grupos tratados com laser de baixa intensidade desenvolveram mucosite menos severa quando comparado ao grupo não tratado ($p < 0,05$), como pode ser observado nas Figuras 7 a 16.

Analisando-se o Gráfico 1, observa-se que os grupos I, III e V atingem o mesmo valor médio referente à severidade da mucosite, porém, o grau da mucosite decresce de maneira diferenciada, tendo o grupo V (controle) a menor diminuição. O grupo V teve melhora mais lenta e maior grau de mucosite ao longo do experimento.

No grupo IV, que recebeu irradiação com 72 J/cm^2 , não houve nenhum registro de mucosite grau 5 e foi o grupo que apresentou melhor melhora da mucosite ao longo dos dias (Figura 14).

O grupo I, que recebeu laser com densidade de energia de 4 J/cm^2 apresentou mucosite severa nos dias 6 e 8 e no dia 12 observou-se melhora da mucosite e cicatrização das lesões (Figura 8)

Na Tabela 18 observa-se a comparação entre os grupos nos dias 6 e 8. Nos dias 10 e 12 não houve diferença estatisticamente significativa entre as diferentes densidades de energia usadas para tratar a mucosite.

A avaliação histopatológica da mucosite mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. No dia 8 o grupo IV apresentou o menor grau de mucosite entre todos os grupos estudados

(100% dos animais apresentaram grau, representando inflamação discreta). No dia 12, todos os animais tratados com laser apresentaram grau igual ou menor a 2 (inflamação moderada). Os piores resultados foram vistos no grupo controle, que apresentou média 4 (formação de abscesso), como visto no Gráfico 7 e na Figura 21.

Os achados histológicos tardios, como a presença de franca ulceração (Figura 21) estão correlacionados com a presença de ulceração e necrose clinicamente (Figura 16). O colapso do tecido epitelial é uma consequência da estomatotoxicidade direta, sendo acelerada pela irritação local. A perda da integridade do epitélio oral facilita a instalação de quadro infeccioso, representando uma porta de entrada para os microrganismos nos pacientes que recebem quimioterapia.

O presente estudo também está de acordo com os achados de França³⁶, 2008 que observou danos menos severos ao epitélio, seguido por cicatrização mais rápida, organização do tecido de granulação e aumento da angiogênese, efeitos benéficos decorrentes da laserterapia (Figuras 17 e, f, g h). Clinicamente observa-se regressão da mucosite e cicatrização das lesões (Figuras 8, 10, 12 e 14).

Diversos estudos in vitro e in vivo demonstraram os efeitos benéficos da irradiação com laser de baixa intensidade, dentre eles a proliferação de fibroblastos^{3, 55, 56, 57}, estimulação da síntese de colágeno^{75, 76}, liberação de fatores de crescimento, inibição da produção de citocinas inflamatórias^{70, 82, 65}, estimulação da cicatrização de úlceras,

feridas e queimaduras^{37,105} e controle da dor e dos processos inflamatórios^{46, 78, 82, 85}.

Estudos realizados previamente em animais reportam alta taxa de mortalidade, variando de 3 a 35%, que foi encontrada também no presente trabalho. A mortalidade pode estar relacionada não apenas à dose de 5-FU administrada, mas também aos procedimentos anestésicos, requeridos para aplicação do laser e para as tomadas fotográficas. A maioria dos estudos utiliza o anestésico geral dissociativo ketamina que produz anestesia caracterizada por rigidez muscular e torna o animal alheio ao ambiente externo, associado ao sedativo e relaxante muscular xilazina, o que é recomendado para melhorar a analgesia e reduzir o tônus muscular (Gaertner et al.³⁶, 1987; Olfert et al.⁷¹, 1993).

Alguns estudos utilizam anestésicos inalatórios como os agentes voláteis derivados de éter (dietil éter, isoflurano, entre outros) (Sonis et al.⁹⁵, 1997; Clarke et al.¹⁹, 2002). Esses agentes têm a vantagem de requerer mínima metabolização pelo organismo, uma vez que são exalados pelo pulmão e o nível de anestesia pode ser facilmente e rapidamente controlado. No entanto, para utilização desses agentes voláteis há necessidade de infra-estrutura e equipamentos especiais para sua administração e para sua eliminação do ambiente, além de constante monitoramento dos animais. Além disso, alguns agentes são inflamáveis e irritantes aos tecidos, podendo trazer riscos à saúde do pesquisador.

No presente estudo foram tomadas medidas com o objetivo de diminuir a taxa de mortalidade dos animais. Dentre tais medidas tem-se a utilização do agente anestésico halotano, com acompanhamento de médico veterinário. O procedimento anestésico apresentou resultados satisfatórios, considerando suas propriedades (menor tempo de ação, excreção mais rápida) e por permitir maior controle durante os procedimentos, ao contrário do que acontece com o anestésico injetável quetamina. Dessa forma, a taxa de mortalidade dos animais reduziu-se expressivamente. Outra causa possível da mortalidade deve-se ao fato de os animais doentes submetidos a este protocolo experimental se tornarem inapetentes e se hidratarem mal, o que agrava o quadro e debilita os animais. Esse quadro foi melhorado no presente estudo com a inclusão da administração diária de soro e glicose via oral.

A utilização do LILT apresentou resultados positivos no presente estudo e representa mais uma alternativa terapêutica a ser empregada para reduzir a severidade da mucosite e melhorar a qualidade de vida dos pacientes durante o tratamento oncológico.

Frente à alta incidência da mucosite, a busca por métodos que possam preveni-la e tratá-la quando estabelecida representa uma necessidade real.

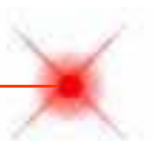
O uso do LILT parece apresentar resultados benéficos para prevenção e tratamento da mucosite bucal e para controle da dor associada a essa alteração, entretanto os estudos clínicos mostram falhas

no delineamento experimental e outros problemas encontrados como, falta de protocolo padronizado, uso de diferentes equipamentos e parâmetros variados o que torna inviável, até o momento, a implementação de um guia de utilização baseado em evidência científica 18, 40, 42, 62, 63, 67, 73.

Os mecanismos atuantes nos bastidores da interação do laser com os tecidos estão apenas parcialmente esclarecidos. A fotobioestimulação promovida pelo laser depende da utilização de parâmetros adequados e esses parâmetros ainda estão sendo investigados.

Enquanto os resultados dos trabalhos são encorajadores, ainda há de se estabelecer verdadeiramente a eficácia dessa modalidade terapêutica para prevenção da mucosite. Trabalhos futuros serão necessários para determinar os efeitos das modificações de parâmetros, como comprimento de onda, fluência e taxa de repetição sobre a mucosite.

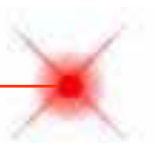
Conclusão



7 Conclusão

O uso do LILT promoveu a redução da severidade da mucosite induzida em hamsters e acelerou a cura das lesões orais. Os efeitos benéficos da laserterapia foram observados tanto na avaliação clínica como na avaliação histopatológica da mucosite, com todas as densidades de energia utilizadas, havendo uma tendência de melhores resultados com as densidades de energia de 12 e 72 J/cm².

Referências



8 Referências*

- 1 Abramoff MM, Lopes NN, Lopes LA, Dib LL, Guilherme A, Caran EM, Barreto AD, Lee ML, Petrilli AS. Low-level laser therapy in the prevention and treatment of chemotherapy-induced oral mucositis in young patients. *Photomed Laser Surg.* 2008; 26: 393-400.
- 2 Abt E. Bioestimulation and photodynamic therapy In: Meserendino L.P, Pick RM. *Laser in dentistry.* Chicago: Quintessence; 1995. p. 17-25.
- 3 Almeida-Lopes L, Massini R J. *Laseres e suas aplicações. Manual do usuário.* São Carlos: DMC Equipamentos; 2001.
- 4 Almeida-Lopes L., Rigau J.; Zangaro RA., Guidugli-Neto J, Jaeger MM. Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers Surg Med.* 2001; 29: 179-84.
- 5 Antunes HS, de Azevedo AM, da Silva Bouzas LF, Adão CA, Pinheiro CT, Mayhe R, et al. Low-power laser in the prevention of induced oral mucositis in bone marrow transplantation patients: a randomized trial. *Blood.* 2007; 109: 2250-5.
- 6 Antunes HS, Ferreira EM, de Matos VD, Pinheiro CT, Ferreira CG. The Impact of low power laser in the treatment of conditioning-induced oral mucositis: a report of 11 clinical cases and their review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2008; 13:189-92.
- 7 Arora H, Pai KM, Maiya A, Vidyasagar MS, Rajeev A. 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 Endod.* 2008; 105: 180-6.

* De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site:

- 8 Arun Maiya G, Sagar MS, Fernandes D. Effect of low level helium-neon (He-Ne) laser therapy in the prevention & treatment of radiation induced mucositis in head & neck cancer patients. *Indian J Med Res.* 2006; 124: 399-402.
- 9 Barasch A, Peterson DE. Risk factors for ulcerative oral mucositis in cancer patients: unanswered questions. *Oral Oncol.* 2003; 39: 91-100.
- 10 Barasch A, Peterson DE, Tanzer JM, D'ambrosio JA, Nuki K, Schubert MM, et al. Helium-Neon laser effects on conditioning - induced oral mucositis in bone marrow transplantation patients. *Cancer.* 1995; 76: 2550-6.
- 11 Bensadoun RJ, Ciais G. Radiation and chemotherapy-induced mucositis in oncology: results of multicenter phase III studies. *J Oral Laser Appl.* 2002; 2 : 115-20.
- 12 Bensadoun RJ, Franquin JC, Ciais G, Darcourt V, Schubert MM, Viot M, et al. Low-energy He/Ne laser in the prevention of radiation-induced mucositis. A multicenter phase III randomized study in patients with head and neck cancer. *Support. Care Cancer.* 1999; 7: 244-52.
- 13 Bensadoun RJ, Magne N, Marcy PY, Demard F. Chemotherapy and radiotherapy-induced mucositis in head and neck cancer patients: new trends in pathophysiology, prevention and treatment. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2001; 259 : 481-7.
- 14 Brown CG, Beck SL, Peterson DE, McGuire DB, Dudley WN, Mooney KH. Patterns of sore mouth in outpatients with cancer receiving chemotherapy. *Support Care Cancer.* 2009; 17:413-28.
- 15 Cheng KKF, Chang AM, Yuen MP Prevention of oral mucositis in paediatric patients treated with chemotherapy: a randomized crossover trial comparing two protocols of oral care. *Eur J Cancer.* 2004; 40 1208-16.

- 16 Cheng KKF, Molassiotis A, Chang AM. An oral care protocol intervention to prevent chemotherapy-induced oral mucositis in paediatric cancer patients: a pilot study. *Eur J Oncol Nurs.* 2002; 6: 66-73.
- 17 Cheng KKF, Molassiotis A, Chang AM, Wai WC, Cheung SS. Evaluation of an oral care protocol intervention in the prevention of chemotherapy-induced oral mucositis in paediatric cancer patients. *Eur J Cancer.* 2001; 37: 2056-63.
- 18 Clarke J, Edwards B, Srpek L, Regester G. Evaluation of bovine lactoferrin as a topical therapy for chemotherapy-induced mucositis in the Golden Syrian hamster. *Oral Oncol.* 1999; 35: 197-202.
- 19 Clarke J, Butler R, Howarth G, Read L, Regester G. Exposure of oral mucosa to bioactive milk factors reduces severity of chemotherapy-induced mucositis in the hamster. *Oral Oncol.* 2002; 38: 478-85.
- 20 Clarkson JE, Worthington HV, Eden OB. Interventions for preventing oral mucositis or oral candidiasis for patients with cancer receiving chemotherapy (excluding head and neck cancer). *Cochrane Database Syst. Rev.*, n. 2, p. CD000978, 2000.
- 21 Conlan MJ, Rapley JW, Cobb CM. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review. *J Clin Periodontol.* 1996; 23: 492-6.
- 22 Costa EMMB, Fernandes MZ, Quinderé LB, Souza LB, Pinto LP. Evaluation of an oral preventive protocol in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17: 147-50.
- 23 Cowen D, Tardieu C, Schubert M, Peterson D, Resbeut M, Faucher C, et al. 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 Radiation Oncology Biol Phys.* 1997; 38: 697-703.

- 24 Cruz LB, Ribeiro AS, Rech A, Rosa LG, Castro CG Jr, Brunetto AL. Influence of low-energy laser in the prevention of oral mucositis in children with cancer receiving chemotherapy. *Pediatr Blood Cancer*. 2007; 48: 435-40.
- 25 Desmet KD, Paz DA, Corry JJ, Eells JT, Wong-Riley MT, Henry MM, et al. Radiation-induced mucositis of the aerodigestive tract: prevention and treatment. MASCC/ISOO mucositis group's recommendations. *Photomed Laser Surg*. 2006; 24: 121-8.
- 26 Dodd MJ, Larson PJ, Dibble SL, Miaskowski C, Greenspan D, Macphail L, et al. Randomized clinical trial of chlorhexidine versus placebo for prevention of oral mucositis in patients receiving chemotherapy. *Oncol Nurs Forum*. 1996; 23 : 921-7.
- 27 Dodd MJ, Dibble SL, Miaskowski C, Macphail L, Greenspan D, Paul SM, et al. Randomized clinical trial of the effectiveness of 3 commonly used mouthwashes to treat chemotherapy-induced mucositis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 2000; 90: 39-47.
- 28 Dodd MJ, Dibble SL, Miaskowski C, Paul S, Cho M, Macphail L, et al. A comparison of the affective state and quality of life of chemotherapy patients who do and do not develop chemotherapy-induced oral mucositis. *J Pain Symptom Manage*. 2001; 21: 498-505.
- 29 Donnelly JP, Blijlevens NMA, Verhagen CAH. Can anything be done about oral mucositis? *Ann Oncol*. 2003; 14: 505-7.
- 30 Duncan M, Grant G. Review article: oral and intestinal mucositis – causes and possible treatments. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 18: 853-74.
- 31 Eduardo CP, Gouw-Soares S, Haypek P. Utilização clínica dos lasers. In: Cardoso RJA, Gonçalves EAN. *Dentística/laser*. São Paulo: Artes Médicas; 2002. p. 442-61.

- 32 Eduardo FP, Nicolli Filho W, Migliorati CA, Zezell DM, Eduardo CP, Schubert MM. Effects of low intensity laser radiation in the prevention of oral mucositis in patients undergoing bone marrow transplants [abstract]. *Braz Dent J.* 2004; 15: 97.
- 33 Eduardo FD, Bezinelli L, Luiz AC, Correa L, Vogel C, Eduardo CD. Severity of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic cell transplantation and an oral laser phototherapy protocol: a survey of 30 patients. *Photomed Laser Surg.* 2008.. [Epub ahead of print].
- 34 Epstein JB, Schubert MM. Oral mucositis in myelosuppressive cancer therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1999; 88: 273-6.
- 35 Epstein JB, Tsang AH, Warkentin D, Ship JA. The role of salivary function in modulating chemotherapy-induced oropharyngeal mucositis: a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002; 94: 39-44.
- 36 França CM, França CM, Núñez SC, Prates RA, Noborikawa E, Faria MR, et al. Low-intensity red laser on the prevention and treatment of induced-oral mucositis in hamsters. *J Photochem Photobiol B.* 2009; 94: 25-31.
- 37 Gaertner DJ, Boschert KR, Schoeb TR. Muscle necrosis in Syrian hamsters resulting from intramuscular injections of ketamine and xylazine. *Lab Anim Sci.* 1987; 37: 80-3.
- 38 Garcia VG, Okamoto T, Kina JR. Reparação de feridas cutâneas submetidas ao tratamento com raio laser. Estudo histológico em ratos. *Rev Odontol UNESP.* 1996; 25: 37-48.
- 39 Garcia VG, Okamoto T, Theodoro LH, Milanezi LA, Garcia JL. Processo de reparo em feridas de extração dental tratadas com laser de baixa intensidade (904 nm), com diferentes energias de irradiação. Estudo histológico em ratos. *Rev Facul Odontol Lins.* 2001; 13: 27-34.

- 40 Garcia VG, Theodoro LH, Colman LS, Fonseca RG, Okamoto T. Influência do número de aplicações de raio laser de bioestimulação sobre a reparação de feridas de extração dentária. Estudo histológico em ratos. Rev Facul Odontol Lins. 2000; 12: 29-37.
- 41 Genot MT, Klastersky J. Low-level laser for prevention and therapy of oral mucositis induced by chemotherapy or radiotherapy. Curr Opin Oncol. 2005; 17: 236-40.
- 42 Genot-Klastersky MT, Klastersky J, Awada F, Awada A, Crombez P, Martinez MD, et al. The use of low-energy laser (LEL) for the prevention of chemotherapy- and/or radiotherapy-induced oral mucositis in cancer patients: results from two prospective studies. Support Care Cancer. 2008; 16 :1381-7.
- 43 Guggenheimer J, Verbin RS, Appel BN, Schmutz J. Clinicopathologic effects of cancer chemotherapeutic agents on human buccal mucosa. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1977; 44 : 58-63.
- 44 Gutknecht N, Eduardo CP. A odontologia e o laser. Atuação do laser na especialidade odontológica. São Paulo: Quintessence; 2004.
- 45 Harris DM. Biomolecular mechanisms of laser bioestimulation. J Clin Laser Med Surg. 1991; 12: 277-80.
- 46 Hejna M, Kostler WJ, Raderer M, Steger GG, Brodowicz T, Scheithauer W, et al. Decrease of duration and symptoms in chemotherapy-induced oral mucositis by topical gm-csf: results of a prospective randomised trial. Eur J Cancer. 2001; 37: 1994-2002.
- 47 Honmura A, Yanase M, Obata J, Haruki E. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. Lasers Surg Med. 1992; 12: 441-9.
- 48 Innocenti F, Ratain MJ. Update on pharmacogenetics in cancer chemotherapy. Eur J Cancer. 2002; 38: 639-44.

- 49 Jaguar GC, Prado JD, Nishimoto IN, Pinheiro MC, de Castro DO Jr, da Cruz Perez DE, et al. Low-energy laser therapy for prevention of oral mucositis in hematopoietic stem cell transplantation. *Oral Dis.* 2007; 13: 538-43.
- 50 Karu T. Photobiology of low-power laser effects. *Healthy Phys.* 1989; 56: 691-704.
- 51 Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-ir radiation on cells. *J Photochem Photobiol B.* 1999; 49: 1-17.
- 52 Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G. Irradiation with he-ne laser increases atp level in cells cultivated in vitro. *J Photochem Photobiol B.* 1995; 27 : 219-23.
- 53 Karu TI. Low power laser therapy. In: Karu TI. *Biomedical photonics handbook.* Florida: CRC Press; 2003.
- 54 Kawasaki G, Yoshitomi I, Yanamoto S, Mizuno A. Thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase expression in oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical and clinicopathologic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002; 94: 717-23.
- 55 Knox JJ, Puodziunas ALV, Feld R. Chemotherapy-induced oral mucositis. Prevention and management. *Drugs Aging.* 2000; 14: 257-67.
- 56 Koutná M, Janisch R, Veselská R. Effects of low-power laser irradiation on cell proliferation. *Scripta Medica.* 2003; 76: 163-72.
- 57 Kreisler M, Christoffers AB, Willershausen B, D'hoedt B. Effect of low-level Gaalas laser irradiation on the proliferation rate of human periodontal ligament fibroblasts: an in vitro study. *J Clin Periodontol.* 2003; 30: 353-8.
- 58 Kreisler M, Christoffers AB, Al-Haj H, Willershausen B, D'hoedt B. Low level 809-nm diode laser-induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. *Lasers Surg Med.* 2002; 30: 365-9.

- 59 Kwong KKF. Prevention and treatment of oropharyngeal mucositis following cancer therapy. Are there new approaches? *Cancer Nurs.* 2004; 27: 183-205.
- 60 Lagan KM, Clements BA, Mcdonough S, Baxter GD. Low intensity laser therapy (830nm) in the management of minor postsurgical wounds: a controlled clinical study. *Lasers Surg Med.* 2001; 28: 27-32.
- 61 Lalla RV, Sonis ST, Peterson DE. Management of oral mucositis in patients who have cancer. *Dent Clin North Am.* 2008; 52: 61-77.
- 62 Loury DJ, Embree JR, Steinberg DA, Sonis ST, Fiddes JC. Effect of local application of the antimicrobial peptide ib-357 on the incidence and severity of oral mucositis in hamsters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999; 87: 544-51.
- 63 Lucas C, Stanborough CL, Freeman CL, De Haan RJ. Efficacy of low-level laser therapy on wound healing in human subjects: a systematic review. *Lasers Med Sci.* 2000; 14: 84-93.
- 64 McGuire, D. Mucosal tissue injury in cancer therapy: more than mucositis and mouthwashes. *Cancer Pract.* 2002; 10: 179-91.
- 65 Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Laser Surg Med.* 1985; 5: 31-9.
- 66 Migliorati C, Massumoto C, Eduardo FP, Muller KP, Carrieri T, Haypek P, et al. Low-energy laser therapy in oral mucositis. *J Oral Laser Appl.* 2001; 1: 97-101.
- 67 Migliorati CA, Oberle-Edwards L, Schubert M. The role of alternative and natural agents, cryotherapy, and/or laser for management of alimentary mucositis. *Support Care Cancer.* 2006; 14: 533-40.
- 68 Morvan FO, Baroukh DL, Caruelle DB, Godeau G, Saffar JL. An engineered biopolymer prevents mucositis induced by 5-Fluorouracil in hamsters. *Am J Pathol.* 2004; 2: 739-46.

- 69 Nes AG, Posso MB. Patients with moderate chemotherapy-induced mucositis: pain therapy using low intensity lasers. *Int Nurs Rev.* 2005; 52: 68-72.
- 70 Nomura K, Yamaguchi M, Abiko Y. Inhibition of interleukin-1 β production and gene expression in human gingival fibroblasts by low-energy laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2001; 16: 218-23.
- 71 Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA, editor. Guide to the care and use of experimental animals. 2nd ed. 1993. v. 1. [cited 2005 Jan. 5]. Available from: < <http://www.ccac.ca>
- 72 Parulekar W, Mackenzie R, Bjarnason G, Jordan RC. Scoring oral mucositis. *Oral Oncol.* 1998; 34: 63-71.
- 73 Pereira AN, Eduardo CP, Matson E, Marque MM. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts. *Lasers Surg Med.* 2002; 31: 263-7.
- 74 Peterson DE, Bensadoun RJ, Roila F; ESMO Guidelines Working Group. Management of oral and gastrointestinal mucositis: ESMO clinical recommendations. *Ann Oncol.* 2008; 19 (Suppl 2): 122-5.
- 75 Pourreau-Schneider N, Soudry M, Remusat M, Franquin JC, Martin PM. Modifications of growth dynamics and ultrastructure after helium-neon laser treatment of human gingival fibroblasts. *Quintessence Int.* 1989; 20: 887-93.
- 76 Pourreau-Schneider N, Soudry M, Franquin JC, Zattara H, Martin PM, Ciais G, et al. Soft laser therapy for iatrogenic mucositis in cancer patients receiving high-dose fluorouracil: a preliminary report. *J Nat Cancer Inst.* 1992; 84: 358-9.
- 77 Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Laser photostimulation of collagen production in healing rabbit achilles tendons. *Lasers Surg Med.* 1998; 22: 281-7.

- 78 Rochkind S, Rousso M, Nissan M, Villarreal M, Barr-Nea L, Rees DG. Systemic effects of low-power laser irradiation on the peripheral and central nervous system, cutaneous wounds and burns. *Lasers Surg Med.* 1989; 9: 174-82.
- 79 Rubenstein EB, Peterson DE, Schubert M, Keefe D, McGuire D, Epstein J, et al. Mucositis Study Section of the Multinational Association for Supportive Care in Cancer; International Society for Oral Oncology. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. *Cancer.* 2004; 1 (Suppl 9): 2026-46.
- 80 Rutkauskas J, Davis JW. Effects of chlorhexidine during immunosuppressive chemotherapy. A preliminary report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993; 74: 441-8.
- 81 Sacono NT, Costa CA, Bagnato VS, Abreu-e-Lima FC. Light-emitting diode therapy in chemotherapy-induced mucositis. *Lasers Surg Med.* 2008; 40: 625-33.
- 82 Sakurai Y, Yamaguchi M, Abiko Y. Inhibitory effect of low-level laser irradiation on Lps-stimulated prostaglandin E2 production and Cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci.* 2000; 108: 29-34.
- 83 Sandoval RL, Koga DH, Buloto LS, Suzuki R, Dib LL. Management of chemo- and radiotherapy induced oral mucositis with low-energy laser: initial results of A.C. Camargo Hospital. *J Appl Oral Sci.* 2003; 11: 337-41.
- 84 Schlager A, Oehler K, Huebner KU, Schmuth M, Spoetl L. Healing of burns after treatment with 670- nanometer low-power laser light. *Plast Reconstr.* 2000; 105: 1635-9.

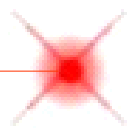
- 85 Schubert MM, Eduardo FP, Guthrie KA, Franquin JC, Bensadoun RJ, Migliorati CA, et al. A phase III randomized double-blind placebo-controlled clinical trial to determine the efficacy of low level laser therapy for the prevention of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic cell transplantation. *Support Care Cancer*. 2007; 15:1145-54.
- 86 Shimizu N, Yamaguchi M, Goseki T, Shibata Y, Takiguchi H, Iwasawa, T, et al. Inhibition of prostaglandin E2 and interleukin 1-Beta production by low-power laser irradiation in stretched human periodontal ligament cells. *J Dent Res*. 1995; 74: 1382-8.
- 87 Sonis S, Koplowsky A, Mitus J, Rosenthal D, Brand M. Relationship of chemotherapy-induced mucositis and myelosuppression in hamsters. *Eur J Cancer B Oral Oncol*. 1992; 28b: 43.
- 88 Sonis ST. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. *Oral Oncol Eur J Cancer*. 1998; 34: 39-43.
- 89 Sonis ST, Costello KA. A database for mucositis induced by cancer chemotherapy. *Oral Oncol Eur J*. 1995; 31b: 258-60.
- 90 Sonis ST, Costa Jr JW, Evitts SM, Lindquist LE, Nicolson M. Effect of epidermal growth factor on ulcerative mucositis in hamsters that receive cancer chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1992; 74: 749-55.
- 91 Sonis ST, Tracey C, Shklar G, Jenson J, Florine D. An animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1990; 69: 437-43.
- 92 Sonis ST, Lindquist L, Van Vugt A, Stewart AA, Stam K, Qu GY. Prevention of chemotherapy-induced ulcerative mucositis by transforming growth factor beta 3. *Cancer Res*. 1994; 54: 1135-8.

- 93 Sonis ST, Muska A, O'Brien J, Van Vugt A, Langer-Safer P, Keith J. Alteration in the frequency, severity and duration of chemotherapy-induced mucositis in hamsters by interleukin-11. *Oral Oncol Eur J Cancer*. 1995; 31b: 261-6.
- 94 Sonis ST, Van Vugt AG, Brien JPO, Muska AD, Bruskin AM, Rose A. Transforming growth factor beta 3 mediated modulation of cell cycling and attenuation of 5-fluorouracil induced oral mucositis. *Oral Oncol*. 1997; 3: 47-54.
- 95 Sonis ST, Van Vugt AG, McDonald J, Dotoli E, Schwertschlag U, Szklut P. Mitigating effects of interleukin 11 on consecutive courses of 5-fluorouracil – induced ulcerative mucositis in hamsters. *Cytokine*. 1997; 9: 605-12.
- 96 Sonis ST, Eilers JP, Epstein JB, Leveque FG, Liggett WH Jr, Mulagha MT, et al. Validation of a new scoring system for the assessment of clinical trial research of oral mucositis induced by radiation or chemotherapy. *Am Cancer Soc*. 1999; 85: 2103-13.
- 97 Sonis ST, O'Donnell KE, Popat R, Bragdon C, Phelan S, Cocks D, et al. The relationship between mucosal cyclooxygenase-2 (Cox-2) expression and experimental radiation-induced mucositis. *Oral Oncol*. 2004; 40: 170-6.
- 98 Sonis ST, Peterson RL, Edwards LJ, Lucey CA, Wang L, Mason L, et al. Defining mechanisms of action of interleukin-11 on the progression of radiation-induced oral mucositis in hamsters. *Oral Oncol*. 2000; 36: 373-81.
- 99 Sonis ST, Scherer J, Phelan S, Lucey CA, Barron JE, O'Donnell KE, et al. The gene expression sequence of radiated mucosa in an animal mucositis model. *Cell Prolif*. 2002; 35 (suppl 1): 93-102.
- 100 Spielberger R, Stiff P, Bensinger W, Gentile T, Weisdorf D, Kewalramani T, et al. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. *N Engl J*. 2004; 351 (25): 2590-8.

- 101 Spijkervet FKL, Sonis S.T. New frontiers in the management of chemotherapy-induced mucositis. *Curr Opin Oncol.* 1998; 10 (suppl 1): S23-7.
- 102 Squier CA, Kremer MJ. Biology of oral mucosa and esophagus. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2001; 29: 7-15.
- 103 Stokman MA, Spijkervet FK, Boezen HM, Schouten JP, Roodenburg JL, de Vries EG. Preventive intervention possibilities in radiotherapy- and chemotherapy-induced oral mucositis: results of meta-analyses. *J Dent Res.* 2006; 85: 690-700.
- 104 Tam, G. Low power laser therapy and analgesic action. *J Clin Lasers Med Surg.* 1999; 17: 29-33.
- 105 Tardieu C, Cowen D, Thirion X, Franquin JC. Quantitative scale of oral mucositis associated with autologous bone marrow transplantation. *Oral Oncol Eur J Cancer.* 1996; 32b: 381-7.
- 106 Tatarunas AC, Matera JM, Dagli MLZ. Estudo clínico e anatomopatológico da cicatrização cutânea no gato doméstico. Utilização do laser de baixa potência GaAs (904nm). *Acta Cir Bras.* 1998; 13: 86-93.
- 107 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. *Radiother Oncol Amsterdam.* 2003; 66: 253-62.
- 108 Tucker JM, Davis C, Kitchens ME, Bunni MA, Priest DG, Spencer HT, et al. Response to 5-fluorouracil chemotherapy is modified by dietary folic acid deficiency in *Apc Min/+* mice. *Cancer Lett.* 2002; 187: 153.
- 109 Van Hamme AS, Malevez C, Ferster A, Abbeele AV. Evaluation of hene laser therapy in prevention and healing of chemotherapy induced oral mucositis lesion in children. *Int J Paed Dent.* 2003; 13 (suppl 1): 33.

- 110 Wijers OB, Levendag PC, Harms ER, Gan-Teng AM, Schmitz PI, Hendriks WD, et al. Mucositis reduction by selective elimination of oral flora in irradiated cancers of the head and neck: placebo-controlled double-blind randomized study. *Int J Rad Oncol Biol Phys*. 2001; 50: 343-52.
- 111 Woo SB, Sonis ST, Monopoli MM, Sonis AL. A longitudinal study of oral ulcerative mucositis in bone marrow transplant recipients. *Cancer*. 1993; 72 : 1612-7.
- 112 Xanthinaki A, Nicolatou-Galitis O, Athanassiadou P, Gonidi M, Kouloulis V, Sotiropoulou-Lontou A, et al. Clinical and experimental applications of NIR-LED photobiomodulation. *Support Care Cancer*. 2008; 16: 1025-33.

Anexo



Anexo 1 – Comitê de Ética

	UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" Câmpus de Araraquara FACULDADE DE ODONTOLOGIA	
<i>Proc. CEEA nr. 14/2007</i>		
Araraquara, 22 de outubro de 2007		
Senhores Pesquisadores,		
O Comitê de Ética em Experimentação Animal-CEEA desta Faculdade reunido em <i>22/10/2007</i>, após a avaliação do projeto de sua responsabilidade intitulado "Expressão de citocinas inflamatórias após laserterapia, efeito da infecção por <i>C. albicans</i> e avaliação da terapia fotodinâmica (PDT) na mucosite induzida por quimioterapia em hamsters" (Proc. CEEA nr. 14/2007) AUTORIZA a realização da pesquisa, ficando a aprovação vinculada à apresentação do RELATÓRIO FINAL em OUTUBRO/2008.		
Atenciosamente.		
 Prof. Dra. Maria Rita Brancini de Oliveira Coordenadora do CEEA		
Ao Prof. Dr. FABIO CESAR BRAGA DE ABREU E LIMA DD. Pesquisador Responsável CD. JUNIA CAROLINA LINHARES FERRARI DD. Pesquisadora Colaboradora Nesta		
Comitê de Ética em Experimentação Animal-CEEA Rua Humaitá s/nº 1.680 - Centro - CEP 14801-903 - Caixa Postal nº 331 - ARARAQUARA - SP 5º andar - fone (16) 3391-6433/6432 / fax (16) 3391-6433 / e-mail: director@fom.unesp.br - home page: http://www.fom.unesp.br		

Anexo 2 – Dados referentes à classificação clínica da mucosite

[illegible]

Anexo 3 – Dados referentes à classificação histológica da mucosite

ESCORES HISTOLÓGICOS										
GRUPO I (4J/CM2)		GRUPO II (12J/CM2)		GRUPO III (35J/CM2)		GRUPO IV (72J/CM2)		GRUPO V (CONTROLE)		
Animal	escore	Animal	escore	Animal	escore	Animal	escore	Animal	escore	
dia 8	1032	3	1010	1	1041	3	1055A	1	1065	3
	1033	2	1011	3	1044	2	1056	1	1066	4
	1034	2	1012	3	1042	4	1057	1	1067	3
	1030	2	1013	3	1043	3	1046	1	1068	3
					1045	3	1055B	1		
dia 12	1029	1	1020	0	1036	0	1050	2	1070	4
	1031	1	1021	2	1038	1	1047	2	1076	4
	1026	1	1022	2	1037	1	1051	2	1075	4
	1028	1	1023	2	1039	1	1053	1	1074	4
					1040	2				

**UTILIZAÇÃO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE (LILT)
PARA TRATAMENTO DA MUCOSITE INDUZIDA EM
HAMSTERS. COMPARAÇÃO CLÍNICA E
HISTOPATOLÓGICA ENTRE PARÂMETROS DE
IRRADIAÇÃO**

Autorizo a reprodução deste trabalho.

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 23 de março de 2009.

JUNIA CAROLINA LINHARES FERRARI