

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 01/09/2019.



UNESP

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA



VIVIAN CRISTINA NORONHA NOVAES

***“Influência de drogas quimioterápicas
na evolução da periodontite
experimental em ratos”***

ARAÇATUBA – SP

2017



UNESP

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA



VIVIAN CRISTINA NORONHA NOVAES

***“Influência de drogas quimioterápicas
na evolução da periodontite
experimental em ratos”***

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, para a obtenção do Título de DOUTOR EM ODONTOLOGIA (Área de concentração em Periodontia).

Orientador: Prof. Dr. Juliano Milanezi de Almeida

Coorientador: Prof. Titular Valdir Gouveia Garcia

ARAÇATUBA – SP

2017

Catálogo na Publicação (CIP)
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

N935i Novaes, Vivian Cristina Noronha.
Influência de drogas quimioterápicas na evolução da
periodontite experimental em ratos / Vivian Cristina Noronha
Novaes. - Araçatuba, 2017
150 f. : 11 il. ; 1 tab.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Juliano Milanezi de Almeida
Coorientador: Prof. Valdir Gouveia Garcia

1. Perda do osso alveolar 2. Doenças periodontais 3. Prepara-
ções farmacêuticas 4. Defeitos da furca 5. Modelos animais
I. T.

Black 6
CDD 617.63

Dados curriculares

Vivian Cristina Noronha Novaes

Nascimento: 15.07.1972 Penápolis- SP

Filiação: Adroaldo Mauro Ribeiro Noronha
Lilian Marcia Marques Navarro

1991-1995: **Graduação em Odontologia**
Faculdade de Odontologia de Lins

1996-1997: **Especialização em Periodontia**
Universidade Metodista de São Paulo - UMESP

2011-2013: **Pós-Graduação em Odontologia**
Nível de Mestrado - ÁREA DE PERIODONTIA
Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

2014-2017: **Pós-Graduação em Odontologia**
Nível de Doutorado - ÁREA DE PERIODONTIA
Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

À Deus

Neste momento dedico esta conquista à Deus, que me deu força e persistência para ultrapassar todos os obstáculos encontrados, iluminando meu caminho em todos os momentos em que precisava de luz, não permitindo que eu desistisse nesta longa caminhada.

Obrigada meu Deus por colocar ao meu lado uma família amorosa e compreensiva, amigos acolhedores e professores generosos. Com eles pude vivenciar momentos maravilhosos de aprendizado e crescimento pessoal.

Obrigada Senhor por todas as graças concedidas e por cada momento que esteve comigo, protegendo-me e guiando-me nesse longo caminho de grandes realizações. Devo a Ele todos os momentos de alegria e sucesso até aqui conquistado. Minha eterna gratidão por mais esta benção em minha vida!

“Tudo posso naquele que me fortalece”

(Filipenses 4:13)

Ao Meu Marido

Dedico especialmente este trabalho ao meu marido *Pedro*, meu eterno amor,

Você viveu comigo todas as emoções desta pós graduação que hoje termino. Sem seu imenso amor eu não teria conseguido. Sou grata pelo seu companheirismo e carinho. Seu incentivo, atenção e proteção tornam essa caminhada mais segura e tranquila. Obrigada por compreender minhas escolhas e tornar possível esta conquista.

Você foi a minha força nas vezes que fraquejei. Seu estímulo foi fundamental para cada conquista. Você acreditou em mim até mesmo quando eu já não acreditava. Sou feliz por ter você em minha vida.

Te amo sempre.

*“Assim como viver
sem teu amor não é viver
Não há você sem mim
e eu não existo sem você.”*

(Eu não existo sem você - Tom Jobim e Vinícius de Moraes)

Às Minhas Filhas

Às minhas amadas filhas *Laura e Helena.*

Vocês são minha alegria e razão de viver. O sorriso de vocês me dá forças para continuar caminhando, mesmo quando não sei o caminho.

Vocês trouxeram para minha vida um significado maior, mudando meus valores, prioridades e urgências. A cada dia tento aprender com vocês a mais importante e bela das profissões, ser mãe.

Reconheço que também se sacrificaram para esta conquista. Mudaram sua rotina, sofreram com minha ausência e de alguma forma compreenderam o meu momento.

Dedico a vocês, minhas filhas queridas, este trabalho e o meu amor eterno e infinito!

“O Amor é a única coisa que cresce à medida que se reparte.”

(O Pequeno Príncipe – Antoine de Saint-Exupéry)

Aos Meus Pais

À minha mãe *Lilian* (in memorian) ,ao meu pai *Abraão*

Ambos me deram o sustentáculo para a vida. Devo a vocês minha formação humana e profissional.

Os exemplos de responsabilidade, trabalho, respeito e solidariedade me tornaram uma pessoa capaz de amar e ser feliz.

Foi o incentivo em ir além, que sempre recebi de vocês, tendo em mente que através do esforço do nosso trabalho podemos alcançar grandes conquistas que me fizeram chegar à este momento.

Compartilho com vocês os méritos desta conquista.

Estarão sempre em meu coração.

Aos Meus Familiares

Família Noronha, Família Navarro e Família Norões

Dedico este trabalho às minhas famílias entrelaçadas pelo amor e comprometimento. Obrigada pelas orações e carinho. Sou especialmente grata pelo apoio constante ao meu marido Pedro e pelo acolhimento às minhas filhas Laura e Helena nos momentos que não pude estar completamente presente.

A toda a minha família, obrigada por caminharem ao meu lado! Mesmo distante, de alguma forma fizeram parte desta conquista.

“Muitas vezes basta ser:

*Colo que acolhe,
 braço que envolve,
 palavra que conforta,
 silêncio que respeita,
 alegria que contagia,
 lágrima que corre,
 olhar que acaricia,
 desejo que sacia,
 amor que promove.”*

(Cora Coralina)

Ao meu orientador ***Professor Dr. Juliano Milanezi de Almeida***, agradeço por estar ao meu lado nessa longa caminhada. Você me deu condições para alcançar objetivos que eu considerava além de minha capacidade. Você mostrou e valorizou o que eu tinha de melhor a oferecer. Confiou, acreditou em mim e sempre me tratou como uma parceira dos seus trabalhos. O valor dessas atitudes foram a razão fundamental que motivaram o meu caminhar na pós-graduação e chego ao final com orgulho imenso de ter sido sua orientada. Você é um professor cativante, inteligente e um exemplo de pesquisador. Mais que meu orientador, você se tornou um grande e inestimável amigo, que tenho prazer em compartilhar cada uma das minhas conquistas e me sinto feliz com as suas. Sua responsabilidade e cuidado comigo foram fundamentais para que eu conseguisse concluir esse trabalho, sempre disposto a me atender em todos os momentos. Obrigada por me escutar, me apoiar e me obrigar a sempre seguir em frente. Obrigada pela sensibilidade em apontar meus erros e novos desafios, me ajudando a vencê-los.

Minha sincera gratidão e admiração por você.

Ao meu coorientador ***Prof. Dr. Valdir Guveia Garcia***, pela confiança depositada em mim, por ter me orientado durante toda esta caminhada e compartilhando comigo algo que não tem preço: Conhecimento.

O senhor esteve comigo no início de minha vida acadêmica, e foi a inspiração para uma de minhas escolhas mais importantes na vida profissional. Com muito orgulho digo que fui sua aluna.

O destino nos reaproximou depois um longo tempo e neste reencontro o senhor me ofereceu uma oportunidade nova, ampliando definitivamente meu horizonte. Nesse momento que alcanço essa grande conquista agradeço imensamente por ter me acolhido com tanta generosidade.

Sou grata por todas as suas orientações e conselhos que vão além do âmbito científico, sempre com uma postura humilde e acolhedora. O seu exemplo como professor e pesquisador sempre irão me acompanhar. Muito obrigada pela oportunidade e por ter contribuído para este momento se tornar realidade!

À **Prof.^a Dr.^a. Leticia Helena Theodoro**, muito obrigada pelas oportunidades concedidas e pelos ensinamentos transmitidos. Além de todo reconhecimento pela sua ajuda, disponibilidade e companheirismo. Muito obrigada por permitir fazer parte de alguns de seus projetos. Trabalhar ao seu lado é um aprendizado imenso.

Como professora é um exemplo de serenidade, humildade e dedicação ao ensino e pesquisa. Admiro-lhe pela forma tranquila e competente com que conduz tudo que faz, sempre com um grande sorriso no rosto. Exemplo de mulher forte e inteligente. Conviver com você foi um presente, obrigada por tudo!

À **Prof.^a Dr.^a. Suelly Bonfim**, e sua equipe do Curso de Medicina Veterinária. Agradeço pela grande colaboração profissional, contribuindo para a elaboração e execução desse trabalho. Professora apaixonada pelo que faz, competente e profissional. Em muitas ocasiões estive pessoalmente realizando nosso experimento, dividindo o tempo que dedica a sua família para nos ajudar. Obrigada pelo convívio agradável e carinhoso. É sempre um prazer estar em sua companhia!

Ao **Prof. Dr. Edilson Ervolino**, sou grata pela presença real, constante e segura em todos os nossos trabalhos. Além da excelência em todas as análises, cada reunião para discussão do trabalho se tornava uma aula enriquecedora e acima de tudo divertida, na qual o que parecia difícil e obscuro se tornava óbvio. Obrigada por transmitir com paixão seus conhecimentos e pela dedicação e contribuição neste e em todos os trabalhos que eu pude participar.

Ao **Prof. Álvaro Bosco**. Que prazer poder conviver com o senhor nos nossos encontros semanais! Pude apreciar toda sua sabedoria e técnica, transmitidas de forma primorosa e humilde! Além de ser um dos grandes nomes da periodontia, o senhor é um ser humano espetacular e agradeço pela oportunidade de poder estar presente em

alguns momentos. Aqueles que além de transmitir os conhecimentos inerentes a profissão, nos ensinam os caminhos da vida e como percorre-los são os que chamamos de Mestres. O senhor é um Mestre! Meu muito obrigado!

*À **Prof. Drª Maria José Hitomi Nagata**, agradeço por ter me concedido a oportunidade de estudar nesta casa, referência de grandes nomes da periodontia nacional, para que eu pudesse aprimorar meus conhecimentos na especialidade que tanto amo. Também agradeço por apoiar meus primeiros passos nessa fascinante caminhada e mostrar-se disponível quando necessário.*

Professora exemplo de dedicação à pesquisa e à docência, estando sempre empenhada com o crescimento do programa de Pós-graduação desta instituição.

Receba minha gratidão, carinho e admiração neste momento.

*“Ensinar não é transferir conhecimento,
mas criar possibilidades para a sua produção ou a sua construção.
Quem ensina aprende ao ensinar e quem aprende ensina ao aprender.”*

(Paulo Freire)

Agradeço aos meus amigos queridos do Team Almeida, pessoas incríveis que o professor Juliano me proporcionou conviver e apreciar. Juntos tivemos momentos de trabalho intenso, alegrias e companheirismo, comprovando que unidos no mesmo objetivo o trabalho se torna leve e podemos ir mais longe. **Giovani e Clara**, obrigada por toda a ajuda, comprometimento e disponibilidade na execução desse trabalho. Sempre trabalharam duro e com um sorriso no rosto, deixando tudo mais leve. Vocês foram fundamentais e me surpreenderam de diversas formas. O mérito desse trabalho também é de vocês! **Nathália, Fred e Bianca** obrigada por sempre estarem disponíveis e muitas vezes deixarem seus compromissos para atender ao chamado da “chefa”. **Henrique e David** meus meninos de ouro! Quando a minha memória falhava ou os desafios tecnológicos eram demais para meu entendimento, lá estavam Henrique ou David com o frescor e entendimento da juventude para me socorrer. Obrigada pelo comprometimento, ajuda e paciência comigo. Vocês tem morada em meu coração! **Breno e Fiorin**, que chegaram de fininho e conquistaram minha admiração. Obrigada pela convivência gostosa e disponibilidade.

Aos meus amigos eternos que conquistei no início dessa caminhada e que para sempre levarei em meu coração **Eriuan, Mariellen, Natália de Campos, Paula, Carol e Nathalia Pola**. Serei eternamente grata por tudo que fizeram por mim. Conviver com vocês foi fundamental para minha jornada e agradeço por tudo o que me ensinaram. Nesses anos de pós graduação convivi com muitos colegas que marcaram minha vida, mas nada se compara as lembranças deixadas pelos colegas do início dessa jornada. São amigos que acompanharam e participaram de uma transformação pessoal profunda, às vezes sofrida, às vezes intensamente gratificante. Deixaram uma pedaço de suas almas comigo e levaram um pedaço da minha consigo.

Aos colegas da periodontia que estiveram durante meu doutorado, *Alessandra, Marcio, Marina, Martha, Daniela Janjacomio, Daniela, Joao e Luan.*
Obrigada pela alegre convivência. Boa sorte e que seus sonhos se realizem!

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, nas pessoas da ex Diretora **Prof. Adj. Ana Maria Pires Soubhia** e do Senhor Vice-Diretor e atual Diretor **Prof. Adj. Wilson Roberto Poi Prof. Titular Poi**, e atual Vice-Diretor **Prof. Titular João Eduardo Gomes Filho** por proporcionar a realização desta pesquisa e pelos anos de graduação, pós-graduação e crescimento profissional.

À atual coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa do Prof. Adj. **André Luiz Fraga Briso**, por sua dedicação ao Curso e gosto pela docência.

Aos colegas do Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, nas Áreas de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, Integrada, Estomatologia, Dentística e Prótese Dental.

Aos Funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada - **Renato, Marco, Paulo e Joilson** obrigada pela ajuda e disposição.

A todos os funcionários e estimados amigos da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, **Cláudio Hideo Matsumoto, Ana Claudia Grieger Manzatti, Luzia Anderlini, Denise Haruyo Nakamura Maeda, Luís Cláudio Sedlacek, Ana Paula Rímoli de Oliveira e Maria Cláudia de Castro Benez**, pela atenção e eficiência com que sempre me atenderam.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, **Valéria de Queiroz M. Zagatto, Cristiane Regina Lui Matos, Lilian Sayuri Mada** pelo excelente trabalho, atenção dispensada, grande disposição em atender e ótimo relacionamento.

A todos os funcionários de todos os setores da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, por proporcionarem o conforto e o bom funcionamento desta instituição

Aos funcionários e professores do Departamento de Ciências Básicas, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, por sempre me acolherem tão bem.

Aos funcionários do Biotério, **Camilo e Arnaldo**, que contribuíram para realização da parte experimental.

A **Dirce**, sempre disposta a nos ensinar e ajudar, obrigada pela constante disposição e convivência.

Aos professores da Pós Graduação da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP, pelos ensinamentos durante todo o decorrer do curso.

Aos pacientes, que nos depositando confiança, deram-nos a oportunidade de aprender e a satisfação de tratá-los no decorrer deste curso.

Aos animais, por servir à humanidade com suas vidas.

À **CAPES**, pela concessão da Bolsa de Doutorado

À **FAPESP** pela concessão do Auxílio à Pesquisa (Processo nº 2011/03021-3) para realização deste trabalho.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram durante todo o decorrer do curso e que passaram em minha vida e colaboraram no desenvolvimento da pessoa que hoje sou.

Finalmente, agradeço à **Deus**, ser superior, por ter me concedido essa oportunidade e ter colocado todas essas pessoas maravilhosas em meu caminho.

OBRIGADA!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

Novaes, VCN. **Influência de drogas quimioterápicas na evolução da periodontite experimental em ratos.** [Tese]. Araçatuba: UNESP – Universidade Estadual Paulista; 2017.

Objetivo: Este estudo avaliou comparativamente a influência dos quimioterápicos 5-fluotouracil (5-FU) e Cisplanina (CIS) para tratamento de câncer no periodonto saudável, sobre a evolução da periodontite experimental (PE) e as funções hepáticas e renais de ratos portadores de PE submetidos ao tratamento com os quimioterápicos 5-FU ou CIS. **Materiais e Métodos:** foram utilizado 90 ratos machos distribuídos em 6 grupos. Grupo SPE-SS (n = 15): animais que receberam injeções de 0,5 ml de solução salina 0.9% (SS) sem indução da PE (grupo *Sham*). Grupo PE-SS (n = 15): animais que receberam injeções s de 0,5 ml de SS e indução da PE após a primeira injeção. Grupo SPE-5FU (n=15): animais que receberam injeções de 5-Fluorouracil (5-FU) sem indução da PE. Grupo PE-5FU (n = 15): animais que receberam injeções de 5-FU e indução da PE após a primeira injeção. Grupo SPE-CIS (n = 15): animais que receberam injeções Cisplatinas (CIS) sem indução da PE. Grupo PE-CIS (n = 15): animais que receberam injeções de CIS e indução da PE após a primeira injeção. Para indução da PE foi adaptado um fio de algodão número 24 ao redor dos primeiros molares inferiores direito e esquerdo. Decorridos 07, 15 e 30 dias após a primeira injeção intraperitoneal (SS ou quimioterápicos) os animais foram eutanaziados. Foi realizada coleta sanguínea para análises hematologia e bioquímicas de aspartato aminotransferase (AST), alamina aminotransferase (ALT), creatinina e uréia previamente as injeções e aos 07 e 30 dias, totalizando 60 dos 90 ratos. Foram coletadas as mandíbulas contendo os primeiros molares inferiores e processadas de acordo com as análises propostas. Para a análise fotométrica avaliou-se a perda óssea alveolar ao redor

do primeiro molar inferior. Para a análise de microtomografia computadorizada (μ CT) avaliou-se a porcentagem de volume de tecido ósseo (PVTO) na região de furca. As hemimandíbulas contralaterais foram utilizadas para análises histomorfométrica e imunoistoquímicas na região de furca e avaliou-se a porcentagem de área sem osso (PASO), características histológicas e análises dos biomarcadores (TRAP, RANKL, OPG, TNF- α , IL-1 β , PCNA, BAX e HIF-1 α). Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística ($p < 0,05$). **Resultado:** ambos os quimioterápicos 5-FU e CIS contribuíram para o agravamento da evolução da PE por duas vias: aumentando a intensidade e duração do processo inflamatório; e diminuindo a capacidade de reparo tecidual por redução do “turnover” celular e vascular, resultando de forma significativa na maior perda óssea, que comparativamente foi maior nos animais que receberam aplicação sistêmica de 5-FU do que de CIS. Adicionalmente a PE associada ao 5-FU apresentou de maneira significativa maiores níveis de ALT e AST aos 30 dias e associada a CIS apresentou de maneira significativa maiores níveis de Uréia e não apresentou diferença significativa nos níveis de Creatinina. **Conclusão:** ambos os quimioterápicos, 5-FU ou CIS, exacerbaram a severidade da periodontite, sendo que os danos periodontais causadas pelo 5-FU foram comparativamente maiores e mais intensos do que os causados pela CIS. Adicionalmente, podemos concluir que a PE agravou de forma sinérgica as condições debilitantes hepáticas e renais ocasionadas pelos quimioterápicos.

Palavras chaves: perda óssea alveolar; doenças periodontais; quimioterapia; defeito de furca; modelos animais.

Novaes, VCN. **Influence of chemotherapeutics drugs on the evolution of experimental periodontitis in rats.** [Thesis]. Araçatuba: UNESP – São Paulo State University; 2017.

Objective: This study evaluated the influence of chemotherapy with 5-fluorouracil (5-FU) and Cisplanin (CIS) for the treatment of cancer in healthy periodontium, on the evolution of experimental periodontitis (EP), and liver and kidney function of rats with EP treated with chemotherapeutic agents. **Materials and Methods:** 90 male rats were distributed in 6 groups. Group SPE-SS (n = 15): animals that received injections of 0.5 ml of 0.9% saline solution (SS) without PE induction (Sham group). Group PE-SS (n = 15): animals that received injections of 0.5 ml of SS and induction of PE after the first injection. Group SPE-5FU (n = 15): animals receiving injections of 5-Fluorouracil (5-FU) without induction of PE. Group PE-5FU (n = 15): animals receiving injections of 5-FU and induction of PE after the first injection. SPE-CIS group (n = 15): animals that received Cisplatin injections (CIS) without PE induction. PE-CIS group (n = 15): animals that received CIS injections and PE induction after the first injection. For EP induction a cotton thread number 24 was fitted around the first right and left lower first molars. After 07, 15 and 30 days after the first intraperitoneal injection (SS or chemotherapeutic) the animals were euthanized. Blood samples were collected for hematological and biochemical analyzes of AST, ALT, creatinine and urea before injections and at 07 and 30 days. The mandibles containing the mandibular first molars were collected and processed according to the proposed analyzes. For the photometric analysis, alveolar bone loss (ABL) around the lower first molar was evaluated. For the analysis of computerized microtomography (μ CT) the percentage of bone tissue volume (PBTv) in the furcation region was evaluated. The contralateral hemimandibula were

used for histomorphometric and immunohistochemical analyzes in the furcation region and the percentage of bone-free area (PBFA), histological characteristics and biomarkers analysis (TRAP, RANKL, OPG, TNF- α , IL-1 β , PCNA, BAX and HIF-1 α). Data were submitted to statistical analysis ($p < 0.05$). **Results:** Both chemotherapy 5-FU and CIS contributed to the worsening of the evolution of EP by two routes: increasing the intensity and duration the inflammatory process; and decreased tissue repair ability by reducing cell and vascular turnover, resulting in significantly greater bone loss, which was comparatively higher in animals treated with 5-FU than in CIS. Additionally, 5-FU associated PE significantly increased ALT and AST levels at 30 days and associated CIS significantly increased Urea levels and showed no significant difference in Creatinine levels. **Conclusion:** both chemotherapy, 5-FU or CIS, exacerbated the severity of periodontitis, and periodontal damage caused by 5-FU was comparatively bigger and faster than those caused by CIS. In addition, we can conclude that PE has synergistically aggravated the liver and kidney debilitating conditions caused by chemotherapy.

Key words: alveolar bone loss, periodontal disease; chemotherapy; furcation defect; animal models.

Capítulo 1

Tabela 1	Porcentagem de espécimes por escore dos parâmetros da Análise Histológica da região de furca do primeiro molar inferior de acordo com cada grupo e período.	84
----------	---	----

Capítulo 1

- Figura 1** **A:** Gráfico mostrando média e desvio padrão da PVTO na região de furca do primeiro molar inferior. Abreviações: ¶ diferença estatisticamente significativa aos 30 dias no mesmo grupo; ¶ diferença estatisticamente significativa aos 7 dias no mesmo grupo; † diferença estatisticamente significativa com os grupos SPE para o mesmo período; ‡ Diferença estatisticamente significativa com o grupo PE-5FU para o mesmo período; § Diferença estatisticamente significativa com o grupo PE-CIS para o mesmo período; (teste ANOVA, teste de Tukey) ($p \leq 0,05$). **B-D:** Imagens da μ CT para análise volumétrica da área de furca do primeiro molar inferior usando o plano sagital dos grupos SPE-SS, SPE-5FU e SPE-CIS aos 7 dias. **E-G:** Imagens da μ CT para análise volumétrica da área de furca do primeiro molar inferior usando o plano sagital dos grupos PE-SS, PE-5FU e PE-CIS aos 7 dias. Observar menor preenchimento ósseo na área de furca nos animais que receberam 5-FU ou CIS. **H-J:** Imagem tridimensional gerada pelo software dos grupos PE-SS, PE-5FU e PE-CIS aos 30 dias. 85
- Figura 2** **A:** Gráfico mostrando média e desvio padrão da PASO na região de furca do primeiro molar inferior. Abreviações: ¶ Diferença estatisticamente significativa no mesmo grupo com 15 dias. † Diferença estatisticamente significativa com os grupos SPE nos mesmos períodos. ‡ Diferença estatisticamente significativa com PE-SS nos mesmos períodos. § Diferença estatisticamente significativa com PE-CIS nos mesmos períodos. (Teste ANOVA, teste de Tukey) ($p < 0,05$). **B-D:** Fotomicrografia mostrando o efeito da quimioterapia em tecido periodontal saudável. Periodonto da região de furca do primeiro molar inferior de ratos que não foram submetidos à quimioterapia (B) ou submetidos a quimioterapia com 5-FU (C) ou CIS (D). **E-J:** 86

Fotomicrografias mostrando o efeito da quimioterapia na progressão da periodontite experimental. Características histológicas da região de furca do primeiro molar inferior de ratos portadores de PE e que não foram submetidos a quimioterapia após 7 e 30 dias (E / H). Características histológicas da região de furca de ratos portadores de PE e que foram submetidos a quimioterapia com 5-FU (F / I) e CIS (G / J) após 7 e 30 dias. Abreviatura: oa osso alveolar. Coloração: hematoxilina e eosina (HE). Ampliação original: x50. Barras de escala: 400 μ m.

Figura 3

A: Padrão de imunomarcção para TRAP no osso alveolar da região de furca do primeiro molar inferior em ratos. **B:** Gráfico mostrando média e desvio padrão das células TRAP positivas em cada grupo e período. Abreviações: ¶ Diferença estatisticamente significativa com 7 dias no mesmo grupo; † Diferença estatisticamente significativa com os grupos SPE no mesmo período; ‡ Diferença estatisticamente significativa com o grupo PE-SS no mesmo período. (Teste ANOVA, teste de Tukey) ($p \leq 0,05$). **C-K:** Padrão de imunomarcção de células TRAP positivas no osso alveolar aos 7 dias. Região de furca do primeiro molar inferior de ratos portadores de PE e que não foram submetidos a quimioterapia. **L-M:** Fotomicrografias mostrando o padrão de imunomarcção para células RANKL positivas no osso alveolar aos 7 dias. **O-P:** Fotomicrografias mostrando o padrão de imunomarcção para células OPG positivas no osso alveolar aos 30 dias. Região de furca do primeiro molar inferior de ratos que não foram submetidos à quimioterapia (C) ou submetidos a quimioterapia com 5-FU (F) ou CIS (I). Região de furca do primeiro molar inferior de ratos portadores de PE e que não foram submetidos a quimioterapia (D, E, L, O) e ratos portadores de PE e que foram submetidos a quimioterapia com 5-FU (G, H, M, P) ou CIS (J, K, N, Q). Setas pretas: células TRAP positivas (A-K),

células RANKL positivas (L-M). Abreviatura: oa osso alveolar; lp ligamento periodontal. Contra-coloração: hematoxilina de Harris. Ampliação original: C, F e I 200x; D, G e J 400x, A, E, H, K-Q 1000x. Barras de escala: A, 10 μm ; E, H e K, 20 μm ; L-K, 30 μm ; C, F e I, 50 μm ; D, G e J, 100 μm .

Figura 4

A-C: Fotomicrografia mostrando padrão de imunomarcção para $\text{TNF}\alpha$ na região de furca aos 30 dias. Região de furca do primeiro molar inferior de ratos que não foram submetidos à quimioterapia (A) ou submetidos a quimioterapia com 5-FU (B) ou CIS (C). **D-F:** Fotomicrografia mostrando padrão de imunomarcção para $\text{IL-1}\beta$ na região de furca aos 15 dias. Região de furca do primeiro molar inferior de ratos que não foram submetidos à quimioterapia (A) ou submetidos a quimioterapia com 5-FU (B) ou CIS (C). Setas pretas: $\text{TNF}\alpha$ (A-C), $\text{IL-1}\beta$ (D-F). Abreviatura: oa osso alveolar. Contra-coloração: hematoxilina de Harris. Ampliação original: 1000x. Barras de escala: 100 μm .

88

Figura 5

A: Gráfico mostrando média e desvio padrão das células PCNA positivas em cada grupo e período. Abreviações: ¶ Diferença estatisticamente significativa com 7 dias no mesmo grupo; || Diferença estatisticamente significativa com 15 dias no mesmo grupo; † diferença estatisticamente significativa com o grupo SPE-SS no mesmo período; ‡ Diferença estatisticamente significativa com o grupo PE-SS no mesmo período; § Diferença estatisticamente significativa com o grupo SPE-CIS para o mesmo período. (Teste ANOVA, teste de Tukey) ($p \leq 0,05$). **B-D:** Padrão de imunomarcção de células PCNA positivas no osso alveolar aos 7 dias. **E-G:** Fotomicrografias mostrando o padrão de imunomarcção para células HIF-1 α positivas no osso alveolar aos 15 dias. **H-J:** Fotomicrografias mostrando o padrão de imunomarcção para células BAX positivas no osso alveolar aos 15 dias. Região de furca do primeiro molar inferior de ratos

89

portadores de PE e que não foram submetidos a quimioterapia (B, E, H) e ratos portadores de PE e que foram submetidos a quimioterapia com 5-FU (C, F, I) ou CIS (D, G, J). Setas azuis: células PCNA positivas, setas pretas: células HIF-1 α positivas (E-G), células BAX positivas (H-J). Abreviatura: oa osso alveolar. Contra-coloração: Fast green (B-D), hematoxilina de Harris (E-J). Ampliação original: B-D 400x; E-J 1000x. Barras de escala: B-D, 40 μ m; E-J, 20 μ m.

Capítulo 2

- Figura 1** **A:** Gráfico mostrando média e desvio padrão da POA (vestibular e lingual) do primeiro molar inferior em cada grupo e período. Abreviações: * Diferença estatisticamente significativa no mesmo grupo com 7 dias. ω Diferença estatisticamente significativa com os grupos SPE-SS, SPE-CIS e SPE-5FU nos mesmos períodos. Ω Diferença estatisticamente significativa com PE-SS nos mesmos períodos. $\dagger$ Diferença estatisticamente significativa com PE-CIS nos mesmos períodos. (Teste ANOVA, teste de Tukey) ($p \leq 0,05$). **B-G:** Imagens representativas do osso alveolar vestibular (B-D) e lingual (E-G) dos animais não portadores de PE que não foram submetidos a quimioterapia (B/E) e submetidos a quimioterapia com 5-FU (C/F) ou CIS (D/G) aos 30 dias. **H-M:** Imagens representativas do osso alveolar vestibular (H-J) e lingual (K-M) dos animais portadores de PE que não foram submetidos a quimioterapia (H/K) e submetidos a quimioterapia com 5-FU (I/L) ou CIS (J/M). Setas pretas indicando a perda óssea alveolar. 119
- Figura 2** Gráfico mostrando média dos Leucócitos Totais em cada grupo no decorrer dos períodos. Abreviações: * Diferença estatisticamente significativa com Baseline. (Teste ANOVA, teste de Tukey) ($p \leq 0,05$). 120

- Figura 3 Gráfico mostrando média e desvio padrão dos níveis de ALT de acordo com cada grupo e período. 121
- Abreviações: * Diferença estatisticamente significativa no mesmo grupo com Baseline. π Diferença estatisticamente significativa no mesmo grupo com 7 dias. ω Diferença estatisticamente significativa com os grupos SPE-SS nos mesmos períodos. Ω Diferença estatisticamente significativa com PE-5FU nos mesmos períodos. (teste ANOVA, teste de Tukey) ($p \leq 0,05$).
- Figura 4 Gráfico mostrando média e desvio padrão dos níveis de AST de acordo com cada grupo e período. 122
- Abreviações: * Diferença estatisticamente significativa no mesmo grupo com Baseline. π Diferença estatisticamente significativa no mesmo grupo com 7 dias. ω Diferença estatisticamente significativa com os grupos SPE-SS nos mesmos períodos. Ω Diferença estatisticamente significativa com PE-5FU nos mesmos períodos. $\dagger$ Diferença estatisticamente significativa com PE-CIS nos mesmos períodos. (teste ANOVA, teste de Tukey) ($p \leq 0,05$).
- Figura 5 Gráfico mostrando média e desvio padrão dos níveis de AST de acordo com cada grupo e período. 123
- Abreviações: * Diferença estatisticamente significativa no mesmo grupo com Baseline. π Diferença estatisticamente significativa no mesmo grupo com 7 dias. ω Diferença estatisticamente significativa com os grupos SPE-SS nos mesmos períodos. Ω Diferença estatisticamente significativa com PE-5FU nos mesmos períodos. $\dagger$ Diferença estatisticamente significativa com PE-CIS nos mesmos períodos. (teste ANOVA, teste de Tukey) ($p \leq 0,05$).
- Figura 6 Gráfico mostrando média e desvio padrão dos níveis de Ureia de acordo com cada grupo e período. 124
- Abreviações: * Diferença estatisticamente significativa no mesmo grupo com Baseline. $\dagger$ Diferença estatisticamente significativa com PE-CIS nos mesmos períodos. (teste ANOVA, teste de Tukey) ($p \leq 0,05$).

Lista de Abreviaturas e Siglas

μCT – microtomografia computadorizada

5-FU – 5 Fluorouracil

AF - área total da furca

ALT – Alamina Amina Transferase

ANOVA – Análise de Variância

AO - área ocupada por tecido ósseo

aPDT – Terapia Fotodinamica antimicrobiana

ARRIVE – “Animal Research: Reporting in Vivo Experiments”

AST – Aspartato Amina Transferase

BAX – “Bcl-2 associated protein X”

Bcl-2 – “B cell lymphoma protein 2”

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CEEA – Comissão de Ética em Experimentação de Animais

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CIS – Cisplatina

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DNA - Ácido desoxiribonucleico

DP - Doença Periodontal

EDTA - Ácido Etilenodiaminotetracético

FAPESP – Fundação de Amparo à pesquisa

FdUMP - monofosfato de fluorodesoxiuridina

g – Grama

GGT – Gama Glutamil Transferase

H&E - Expressa a técnica de coloração das lâminas. Hematoxilina e Eosina

HIF-1 α – “Hypoxia-inducible factor 1-alpha”

IL – Interleucina

INCA – Instituto Nacional de Câncer

LLLT – “Low-Level Laser Therapy”

LT – Leucócitos Totais

mg – Miligramas

mg/Kg - Miligramas por quilogramas

mL - Mililitros, equivalente à milésima parte do litro

mm² – Milímetros quadrado

MMPs – Metaloproteinases da matriz

NHANES – “National Health and Nutrition Examination Survey”

OMS – Organização mundial de saúde.

OPG – Osteoprotegerina.

PASO – Porcentagem de área sem osso.

PCNA – “Proliferating cell nuclear antigen”

PCR – proteína C reativa

PE – Periodontite experimental.

POA – perda óssea alveolar.

POF - Porcentagem de Osso na região de Furca

RANK – Receptor ativador de NF- Kappa B

RANKL - Receptor ativador de NF-Kappa B ligante

RAR - Raspagem e Alisamento Radicular

RNA - Ácido ribonucleico mensageiro

ROI – região tridimensional de interesse

SPE – Sem Periodontite Experimental

SS – Solução Salina.

TGF – Taxa de Filtração Glomerular

TLBI – Terapia com laser de baixa intensidade

TNF α – Fator de Necrose Tumoral Alfa

TRAP - Fosfatase Ácida Tartarato Resistente

VEGF – “vascular endothelial growth factor”

VTO – porcentagem de volume de tecido ósseo.

μm – Micrometros

Lista de Anexos

Anexo

- A Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CCEA). 134

Anexo

- B Delineamento do Estudo. 135

Anexo

- C Figura representativa da região de interesse (ROI) da análise de Porcentagem de Volume de Tecido Ósseo (VTO). 135

Anexo

- D Figura representativa da metodologia adotada para análise histométrica e área adotada para contagem de células TRAP e PCNA positivas. 136

Anexo

- E Figura representativa da metodologia adotada para análise fotométrica. 136

Anexo

- F Normas para Publicação do Periódico “*Journal of Periodontology*” 137

Anexo

- G Normas para Publicação do Periódico “*Journal of Supportive Care in Cancer*” 146

Sumário

1 Introdução Geral.....	37
 2 Capítulo 1 - Estudo comparativo da influência da quimioterapia com 5-fluorouracil e cisplatina na progressão da periodontite experimental.	51
2.1 Resumo.....	53
2.2 Abstract.....	55
2.3 Introdução.....	57
2.4 Materiais e Métodos.....	60
2.5 Resultados.....	65
2.6 Discussão.....	70
2.7 Referências.....	77
 3 Capítulo 2 – Relação entre a periodontite experimental e drogas quimioterápicas nos danos hepáticos e renais em ratos.	90
3.1 Resumo.....	92
3.2 Abstract.....	94
3.3 Introdução.....	96
3.4 Materiais e Métodos.....	100
3.5 Resultados.....	104
3.6 Discussão.....	107

3.7 Referências.....	113
4 Considerações Finais	125
Anexos.....	133

Introdução

Geral

Introdução Geral

Proporcionar qualidade de vida aos pacientes submetidos ao tratamento oncológico é uma busca constante, principalmente após o aumento da expectativa de vida obtida pelas novas terapias de combate ao câncer. Por outro lado, a OMS estima que o aparecimento anual de novos casos de câncer irá aumentar dos 14 milhões registrados em 2012 para 22 milhões dentro das próximas duas décadas (WHO 2014). O tratamento convencional para o câncer é baseado, atualmente, em três importantes modalidades: cirurgia, radioterapia e quimioterapia citotóxica. A retirada cirúrgica de um tumor primário é um tratamento necessário e efetivo para um grande número de tipos de câncer (SHURIN, 2009). Já a terapia com quimioterapia citotóxica se baseia na administração de uma dose máxima tolerável das drogas escolhidas, com o objetivo de promover a erradicação do maior número de células tumorais. O principal efeito adverso da quimioterapia está relacionado com a toxicidade aguda e acumulada para os tecidos normais, incluindo as células do sistema imune. Assim, a quimioterapia convencional está comumente associada com uma variedade de efeitos colaterais, inclusive mielossupressão e diminuição da viabilidade e número de células (SALTZ & KEMENY, 1996; HALF & ARBER, 2009).

Dentre os diversos quimioterápicos empregados no tratamento de câncer, o 5-Fluorouracil (5-FU) e a Cisplatina (CIS) são drogas amplamente utilizadas durante a quimioterapia (TAYLOR et al., 1994; LORCH et al., 2011; VERMORKEN et al., 2014), sendo que a CIS também pode ser utilizada durante a radioterapia em razão do seu potencial radiosensibilizador (DEWIT, 1987). A CIS é um composto com ampla atividade antineoplásica, sendo utilizada no tratamento de vários tipos de cânceres, dentre os quais os de testículo, pulmão, ovário, esôfago, cabeça e pescoço, mama e o

carcinoma de bexiga (WANG & LIPPARD, 2005; PANG et al., 2007; ZHANG et al., 2009). A molécula de cisplatina possui um átomo central de platina rodeado por dois átomos de cloro e dois grupos amônia e torna-se ativa pela reação de moléculas de água com os íons cloreto, reagindo, assim, com biomoléculas como DNA, RNA, proteínas e membranas fosfolipídicas (WANG & LIPPARD, 2005; CHO et al., 2008). Sabe-se que a atividade antitumoral da cisplatina é resultado da sua interação com o DNA. Esta molécula ao entrar na célula, sofre reações que deixam a platina disponível para se ligar a bases do DNA e formar vários tipos de aductos que podem dar origem a ligações cruzadas intra e intercadeia (WOZNIAK et al., 2004; WANG & LIPPARD, 2005; RABIK & DOLAN, 2007). As alterações mais frequentemente observadas no DNA são os aductos entre guaninas adjacentes, que representam cerca de 65% de todas as lesões; 25% são representadas por aductos entre guanina e adenina e o restante é formado por ligações cruzadas intercadeias (KARTALOU & ESSIGMANN, 2001; RABIK & DOLAN, 2007; KOBERLE et al., 2010). Os aductos cisplatina-DNA podem inibir processos celulares fundamentais que incluem replicação, transcrição, tradução e reparo de DNA (WOZNIAK et al., 2004; CHO et al., 2008).

Com relação ao 5-FU, este é um antimetabólito do tipo análogo da pirimidina, com amplo espectro de ação contra tumores sólidos de cabeça e pescoço, trato gastrointestinal, ovário, fígado, cérebro e mama (ARIAS, 2008). Após sua entrada na célula, o 5-FU interfere com o metabolismo dos nucleosídeos e é incorporado a todas as classes de RNA por meio da RNA-polimerase. Adicionalmente, o fluorouracil forma o monofosfato de fluorodesoxiuridina (FdUMP), que incorporado a timidilato sintase leva a inibição desta enzima impedindo a síntese de timidilato, que é um precursor necessário do DNA. A ação do 5-FU sobre o DNA e o RNA promove a toxicidade e

morte celular (NOORDHUIS et al., 2004; ARIAS, 2008; WISNIEWSKA-JAROSINSKA et al.; 2011).

Os quimioterápicos antineoplásicos atuam no metabolismo das células que possuem rápido crescimento e proliferação, como as células cancerígenas, induzindo sua apoptose (GUCHELAAR et al., 1998; ARIAS, 2008). A falta de especificidade na sua biodistribuição sistêmica faz com que estas drogas atinjam tanto as células alvo como as células saudáveis que possuem alto índice mitótico (ARIAS, 2008). Desta forma, a cavidade oral é alvo frequente dos efeitos tóxicos dos agentes antineoplásicos por apresentar tecidos com rápida divisão celular, comparável aos tumores malignos. (GUGGENHEIMER et al., 1997; MCGUIRE, 2002; NAIDU et al., 2004). No periodonto, o epitélio juncional é responsável pela adesão dentogengival e tem um papel fundamental na defesa dos tecidos periodontais (TSUKAMOTO et al., 2012). Por ser um tecido com rápida proliferação ele pode ter sua renovação comprometida pela ação dos quimioterápicos, o que pode favorecer a penetração e contaminação dos tecidos mais profundos, incluindo os que compõem o periodonto de inserção. Por outro lado, o 5-FU pode bloquear a proliferação de osteoblastos e induzir sua apoptose em placas de crescimento ósseo (XIAN et al., 2006). Além desta ação, o 5-FU pode afetar o sistema RANK-RANKL-OPG, um dos sistemas reguladores do metabolismo ósseo, resultando no aumento das células clásticas TRAP-positivas (RAGHU NADHANAN et al., 2012, GARCIA et al., 2015). Com relação a CIS, esta promove um efeito negativo sobre a resposta tecidual frente a inflamação em defeitos ósseos (STINE et al., 2014). Desta forma, estas alterações podem favorecer o desenvolvimento da doença periodontal (DP).

A DP é uma doença imuno-inflamatória em que o desafio microbiano induz a resposta inflamatória do hospedeiro, que em indivíduos susceptíveis resultará na

destruição dos tecidos periodontais (CEKICI et al., 2014; SANZ et al., 2017). A patogênese da doença periodontal pode ser influenciada tanto por fatores etiológicos locais como sistêmicos, sendo que drogas que interagem com a resposta imune do hospedeiro podem alterar sua progressão (NASSAR et al., 2009; FERNANDES et al., 2009; ALANI & SAYMOUR, 2014). Estudos clínicos demonstraram que a quimioterapia provocou aumento do índice gengival (JENSEN et al., 2008; DJURIC et al., 2010), alterações na resposta inflamatória gengival, aumento na profundidade de sondagem (MAZZEO et al., 2009; DJURIC et al., 2010) e aumento dos índices de placa e sangramento (DJURIC et al., 2010). Ogawa et al., 2012 constataram que a periodontite ocorreu com maior frequência em pacientes que receberam tratamento quimioterápico. Além disso, estudos concluíram que o tratamento periodontal não cirúrgico em pacientes submetidos a quimioterapia para tratamento de câncer é capaz de promover melhoras na condição periodontal (VOZZA et al., 2015; VARGAS-VILLAFUERTE et al., 2016), porém com resultados menos favoráveis comparados aos pacientes com periodontite sem câncer (VARGAS-VILLAFUERTE et al., 2016).

Contudo para entender os mecanismos pelo qual os quimioterápicos influenciam na patogênese da PE, são necessários estudos experimentais. Dentre os poucos estudos experimentais realizados, Garcia e colaboradores (2015) e Theodoro e colaboradores (2016) avaliaram que o tratamento sistêmico com quimioterápico 5-FU em animais portadores de PE resultou em maior destruição do osso alveolar na região de furca, maior infiltrado inflamatório e maior padrão de imunomarcção para RANKL (GARCIA et al. 2015; THEODORO et al. 2016), demonstrando que o 5-FU é capaz de agravar o desenvolvimento da PE. Além disso, foi demonstrado que o tratamento mecânico convencional de raspagem e alisamento radicular (RAR) não foi capaz de estabelecer adequado processo de reparo no periodonto comparado aos animais que não

receberam aplicação sistêmica de 5-FU (GARCIA et al. 2015), porém o uso de terapia coadjuvante à RAR como múltiplas sessões Terapia com Laser de Baixa Intensidade (TLBI) obteve uma melhor resposta ao tratamento da PE em ratos submetidos ao tratamento com 5-FU (THEODORO et al. 2016, THEODORO et al., 2017). Entretanto, além de maiores esclarecimentos com relação a influência do 5-FU na patogênese da DP, que irá colaborar com a fundamentação das terapias coadjuvantes adequadas às condições estabelecidas pelo quimioterápico, também existe a necessidade da avaliação da influência de outras drogas quimioterápicas sobre a patogênese da DP, dentre as quais a CIS que é amplamente utilizado no tratamento de canceres. Desta forma, é de suma importância o entendimento da influência dos quimioterápicos sobre a patogênese da DP para que se possa entender seu potencial modificador na etiologia do desenvolvimento da DP.

É importante ressaltar que a frequência e a severidade das condições debilitante do paciente frente a quimioterapia dependem de diversos fatores associados ao paciente e à terapia antineoplásica. Existem variáveis importantes que aumentam a susceptibilidade do paciente, dentre elas temos a droga utilizada, dose e regime quimioterápico e intensidade da imunossupressão (EPSTEIN & SCHUBERT, 1999; KNOX et al., 2000; DUNCAN & GRANT, 2003; BROWN et al., 2009). Além disso, as drogas quimioterápicas levam alterações significativas em diferentes órgão, podendo se destacar as alterações em fígado e rim. O 5-FU é metabolizado no fígado e inativado pela enzima dihidropirimidina desidrogenase que em algumas condições pode resultar em toxicidade hepática (LUNENBURG et al., 2016). Além disso, após ser metabolizado no fígado o 5-FU é clivado em a-fluoro-b-alanina, amônia, ureia e dióxido de carbono, levando a nefrotoxicidade (RASHID et al.). Do mesmo modo a CIS é reconhecidamente capaz de causar nefrotoxicidade (KARASAWA & STEYGER, 2015), principalmente

em razão do rim absorver a cisplatina em concentrações mais elevadas em comparação com outros tecidos (PABLA et al., 2009; FILIPSKI et al. 2009). Por outro lado, a DP pode exercer efeitos sobre o fígado por meio das bactérias patogênicas, mediadores pró-inflamatórios e estresse oxidativo (HAN et al., 2016), e sobre a função renal pelo aumento da carga inflamatória sistêmica, ocasionando alterações na albumina sérica e níveis de proteína C-reativa (DA COSTA et al., 2015; YOSHIHARA et al., 2017). Deste modo, a DP em conjunto com os efeitos deletérios dos quimioterápicos sobre esses órgãos podem comprometer ainda mais as condições hepáticas e renais e aumentar a debilidade do paciente.

Diante da grande preocupação em elucidar detalhadamente a associação da influência dos quimioterápicos com a DP, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos dos quimioterápicos nos tecidos periodontais normais e sobre a evolução da PE e o efeito sinérgico dos quimioterápicos e PE sobre as funções hepáticas e renais. Portanto, no capítulo 1 foi proposto avaliar a influência dos quimioterápicos 5-FU e CIS nos tecidos periodontais normais e sobre a evolução da doença periodontal em animais portadores de periodontite experimental (PE) do ponto de vista histomorfométrico, imageológico pela análise de microtomografia computadorizada (μ CT), imunoistoquímico para detecção de TRAP, um biomarcador de osteoclastos, RANKL, um regulador positivo da reabsorção óssea; OPG, um regulador negativo da reabsorção óssea; TNF α e IL-1 β , marcadores pró-inflamatórios; PCNA, um marcador de proliferação celular; HIF-1 α regulado pela hipóxia tecidual; e BAX, o produto proteico de um oncogene pró-apoptótico. No capítulo 2 foi proposto o efeito sinérgico da PE associada aos quimioterápicos 5-FU ou CIS sobre as funções hepáticas e renais. Deste modo, as alterações no fígado foram avaliadas pelos níveis séricos das enzimas

Aspartato Aminotransferase (ALT) e da Alanina Aminotransferase (AST) e as funções renais foram avaliadas pelos níveis séricos de Creatinina e Uréia.

Referências da Introdução Geral

1. ALANI, A.; SEYMOUR, R. Systemic medication and the inflammatory cascade. **Periodontol 2000**, p. 198–210, 2014.
2. ARIAS, J.L. Novel strategies to improve the anticancer action of 5-fluorouracil by using drug delivery system. **Molecules** v. 13, p. 2340-2369, 2008.
3. BROWN, C.G.; BECK, S.L.; PETERSON, D.E.; MCGUIRE, D.B.; DUDLEY, W.N.; MOONEY, K.H. Patterns of sore mouth in outpatients with cancer receiving chemotherapy. *Support Care Cancer*, v. 17, p. 413-28, 2009.
4. CEKICI, A.; KANTARCI, A.; HASTURK, H.; VAN DYKE, T.E. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. **Periodontol 2000** v. 64, p. 57-80, 2014.
5. CHO, J.M.; MANANDHAR, S.; LEE, H.R.; PARK, H.M.; KWAK, M.K. Role of the Nrf2-antioxidant system in cytotoxicity mediated by anticancer cisplatin: Implication to cancer cell resistance. **Cancer Lett.** v. 260, p. 96–108, 2008.
6. DA COSTA, T. A.; SILVA, M. J.; ALVES, P. M.; et al. Inflammation Biomarkers of Advanced Disease in Nongingival Tissues of Chronic Periodontitis Patients. **Mediators Inflamm**, 2015: 983782, 2015.
7. DEWIT, L. Combined treatment of radiation and cisdiamminedichloroplatinum (II): a review of experimental and clinical data. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** v. 13, p. 403–426, 1987.
8. DJURIC, M.; CAKIC, S.; HADZI-MIHAILOVIC, M.; PETROVIC, D.; JANKOVIC, L. Oral status in patients receiving 5-fluorouracil for colorectal cancer. **Journal of B.U.ON.: Official Journal of the Balkan Union of Oncology** v. 15, p. 475-479, 2010.
9. DUNCAN, M.; GRANT, G. Review article: oral and intestinal mucositis – causes and possible treatments. *Aliment Pharmacol Ther.* v. 18, p. 853-74, 2003.
10. EPSTEIN, J.B.; SCHUBERT, M.M. Oral mucositis in myelosuppressive cancer therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* v. 88, p. 273-6, 1999.
11. FERNANDES, L.A.; de ALMEIDA, J.M.; THEODORO, L.H.; BOSCO, A.F.; NAGATA, M.J.; MARTINS, T. M.; OKAMOTO, T.; GARCIA, V.G. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in immunosuppressed rats. **J Clin Periodontol** v.36, n.3, p. 219-228, 2009.

12. FILIPSKI, K. K.; MATHIJSEN, R. H.; MIKKELSEN, T. S.; SCHINKEL, A. H.; SPARREBOOM, A. Contribution of organic cation transporter 2 (OCT2) to cisplatin-induced nephrotoxicity. **Clin Pharmacol Ther**, v. 86, p. 396-402, 2009.
13. GARCIA, V.G.; NOVAES, V.C.; DE ALMEIDA, J.M.; LONGO, M.; ERVOLINO, E.; BOMFIM, S.R.; THEODORO, L.H. Evaluation of the progression and treatment of experimental periodontitis in rats subjected to chemotherapy with 5-fluorouracil. **Support Care Cancer**. v. 23, p. 2007-2017, 2015.
14. GUCHELAAR, H.J.; VERMES, I.; KOOPMANS, R.P.; REUTELINGSPERGER, C.P.; HAANEN, C. Apoptosis- and necrosis-inducing potential of cladribine, cytarabine, cisplatin, and 5-fluorouracil in vitro: a quantitative pharmacodynamic model. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology** v. 42, p. 77-83, 1998.
15. GUGGENHEIMER, J.; VERBIN, R.S.; APPEL, B.N.; SCHMUTZ, J. Clinicopathologic effects of cancer chemotherapeutic agents on human buccal mucosa. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. v. 44, p. 58-63, 1977.
16. HALF, E.; ARBER, N. Colon cancer: preventive agents and the present status of chemoprevention. **Expert Opin Pharmacother** v.10, p. 211-219, 2009.
17. HAN P, SUN D, YANG J. Interaction between periodontitis and liver diseases. **Biomed Rep**, v. 5, p. 267-276, 2016.
18. JENSEN, S. B.; MOURIDSEN, H.T.; BERGMANN, O. J.; REIBEL, J.; BRÜNNER, N.; NAUNTOFTE, B. Oral mucosal lesions, microbial changes, and taste disturbances induced by adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. **Oral surgery, Oral medicine, Oral pathology, Oral radiology, and Endodontics** v. 106, p. 217-26, 2008.
19. KARASAWA, T.; STEYGER, P.S. An integrated view of cisplatin-induced nephrotoxicity and ototoxicity. **Toxicol Lett.**, v. 237, p. 219-227, 2015.
20. KARTALOU, M.; ESSIGMANN, J.M. Mechanisms of resistance to cisplatin. **Mutat Res**. v. 478, p. 23–43, 2001.
21. KNOX, J.J.; PUODZIUNAS, A.L.V.; FELD, R. Chemotherapy-induced oral mucositis. Prevention and management. **Drugs Aging**. v. 14, p. 257-67, 2000.
22. KÖBERLE, B.; TOMICIC, M.T.; USANOVA, S.; KAINA, B. Cisplatin resistance: Preclinical findings and clinical implications. **Biochim Biophys Acta**. In press, 2010.

23. LORCH, J.H.; GOLOUBEVA, O.; HADDAD, R.I.; CULLEN, K.; SARLIS, N.; TISHLER, R.; TAN, M.; FASCIANO, J.; SAMMARTINO, D.E.; POSNER, M.R.; TAX 324 Study Group. Induction chemotherapy with cisplatin and fluorouracil alone or in combination with docetaxel in locally advanced squamous-cell cancer of the head and neck: long-term results of the TAX 324 randomised phase 3 trial. **Lancet Oncol.** v. 12, p. 153-9, 2011.
24. LUNENBURG, C.A.; HENRICKS, L.M.; GUCHELAAR, H.J.; SWEN, J.J.; DEENEN, M.J.; SCHELLENS, J.H.; GELDERBLOM, H. Prospective DPYD genotyping to reduce the risk of fluoropyrimidine-induced severe toxicity: Ready for prime time. **Eur J Cancer**, v. 54, p. 40-48, 2016.
25. MAZZEO, M.A.; LINARES, J.A.; CAMPOS, M.L.; BUSAMIA, B.E.; DUBERSARSKY, C.; LAVARDA, M.; JARCHUM, G.; FINKELBERG, A.B. Oral signs of intravenous chemotherapy with 5-Fluorouracil and Leucovorin calcium in colon cancer treatment. **Medicina oral, Patología oral y Cirugía bucal** v. 14, p. 108-113, 2009.
26. MCGUIRE, D.B. Mucosal tissue injury in cancer therapy. More than mucositis and mouthwash. **Cancer Pract.** v. 10, p. 179-91, 2002.
27. NAIDU, M.U.; RAMANA, G.V.; RANI, P.U.; MOHAN, I.K.; SUMAN, A.; ROY, P. Chemotherapy-induced and/or radiation therapy-induced oral mucositis--complicating the treatment of cancer. **Neoplasia** v. 6, p. 423-431, 2004.
28. NASSAR, P.O.; NASSAR, C.A.; GUIMARÃES, M.R.; AQUINO, S.G.; ANDIA, D.C.; MUSCARA, M.N.; SPOLIDORIO, D.M.; ROSSA, C.JR.; SPOLIDORIO, L.C. Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats. **Journal of Periodontal Research** v. 44, p. 479-488, 2009.
29. NOORDHUIS, P.; HOLWERDA, U.; VAN DER WILT, C.L.; VAN GROENINGEN, C.J.; SMID, K.; MEIJER, S.; PINEDO, H.M.; PETERS, G.J. 5-Fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidylate synthase inhibition of human colorectal cancers. **Annals of oncology** v. 15, p. 1025-1032, 2004.
30. OGAWA, K.; UENO, T.; KATO, K.; NISHITANI, H.; AKIYOSHI, K.; IWASA, S.; NAKAJIMA, T.E.; HAMAGUCHI, T.; YAMADA, Y.; HOSOKAWA, A.; SUGIYAMA, T.; SHIMADA, Y. A retrospective analysis of periodontitis during

- bevacizumab treatment in metastatic colorectal cancer patients. **Int J Clin Onc** v. 18, p. 1020-4, 2013.
31. PABLA, N.; MURPHY, R. F.; LIU, K.; DONG, Z. The copper transporter Ctr1 contributes to cisplatin uptake by renal tubular cells during cisplatin nephrotoxicity. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 296, p. 505-511, 2009.
 32. PANG, S.K.; YU, C.W.; AU-YEUNG, S.C.F.; HO, Y.P. DNA damage induced by novel demethylcantharidin-integrated platinum anticancer complexes. **Biochem Biophys Res Commun**. v. 363, p. 235–240, 2007.
 33. RABIK, C.A.; DOLAN, M.E. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. **Cancer Treat Rev**.v. 33, p. 9–23, 2007.
 34. RAGHU NADHANAN, R.; ABIMOSLEH, S.M.; SU, Y.W.; SCHERER, M.A.; HOWARTH, G.S.; XIAN, C.J. Dietary emu oil supplementation suppresses 5-fluorouracil chemotherapy-induced inflammation, osteoclast formation, and bone loss. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism** v. 302, p. 1440-1449, 2012.
 35. RASHID, S.; ALI, N.; NAFEES, S.; HASAN, S. K.; SULTANA, S. Mitigation of 5-Fluorouracil induced renal toxicity by chrysin via targeting oxidative stress and apoptosis in wistar rats. **Food Chem Toxicol**, v. 66, p. 185-193, 2014.
 36. SALTZ, L.B.; KEMENY, N.E., Adjuvant Chemotherapy of Colorectal Cancer. **Oncologist**, v. 1(1 & 2), p. 22-29, 1996.
 37. SANZ, M.; BEIGHTON, D.; CURTIS, M.A.; et al. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. **J Clin Periodontol**. v. 44 Suppl 18:S5-S11, 2017.
 38. SHURIN G.V., A.N., SHURIN M.R. **Cancer Therapy and Dendritic Cell Immunomodulation, in Dendritic Cells in Cancer**, M.R.S.a.R.D. Salter, Ed, Springer: NY. p. 201-216. 2009
 39. STINE, K.C.; WAHL, E.C.; LIU, L.; SKINNER, R.A.; VANDERSCHILDEN, J.; BUNN, R.C.; MONTGOMERY, C.O.; SUVA, L.J.; ARONSON, J.; BECTON, D.L.; NICHOLAS, R.W.; SWEARINGEN, C.J.; LUMPKIN, C.K. JR. Cisplatin inhibits bone healing during distraction osteogenesis. **J Orthop Res**. v. 32, p. 464-470, 2014.

40. TAYLOR, S.G. 4TH; MURTHY, A.K.; VANNETZEL, J.M.; COLIN, P.; DRAY, M.; CALDARELLI, D.D.; SHOTT, S.; VOKES, E.; SHOWEL, J.L.; HUTCHINSON, J.C.; et al. Randomized comparison of neoadjuvant cisplatin and fluorouracil infusion followed by radiation versus concomitant treatment in advanced head and neck cancer. **J Clin Oncol.** v. 12, p. 385-395, 1994.
41. THEODORO, L.H.; LONGO, M.; ERVOLINO, E.; DUQUE, C.; FERRO-ALVES, M.L.; ASSEM, N.Z.; LOUZADA, L.M.; GARCIA, V.G. Effect of low-level laser therapy as an adjuvant in the treatment of periodontitis induced in rats subjected to 5-fluorouracil chemotherapy. **J Periodontal Res.** V. 51, p. 669-680, 2016.
42. THEODORO, L.H.; LONGO, M.; NOVAES, V.C.N.; et al. Low-level laser and antimicrobial photodynamic therapy on experimental periodontitis in rats submitted to chemotherapy by 5-fluorouracil. **Support Care Cancer**, 2017. doi: 10.1007/s00520-017-3738-0. [Epub ahead of print]
43. TSUKAMOTO, Y.; USUI, M.; YAMAMOTO, G.; TAKAGI, Y.; TACHIKAWA, T.; YAMAMOTO, M.; NAKAMURA, M. Role of the junctional epithelium in periodontal innate defense and homeostasis. **Journal of Periodontal Research** v. 47, p. 750-757, 2012.
44. VARGAS-VILLAFUERTE, K.R.; DANTAS, F.T.; MESSORA, M.R.; et al. Preliminary Results of Non-Surgical Periodontal Treatment in Patients With Breast Cancer Undergoing Chemotherapy. **J Periodontol.**, v. 87, p. 1268-1277, 2016.
45. VERMORKEN, J.B.; PEYRADE, F.; KRAUSS, J.; MESÍA, R.; REMENAR, E.; GAULER, T.C.; et al. Cisplatin, 5-fluorouracil, and cetuximab (PFE) with or without cilengitide in recurrent/metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: results of the randomized phase I/II ADVANTAGE trial (phase II part). **Ann Oncol**, v. 25, p. 682-688, 2014.
46. VOZZA, I.; CALDARAZZO, V.; POLIMENI, A.; OTTOLENGHI, L. Periodontal disease and cancer patients undergoing chemotherapy. **Int Dent J.**, v. 65, p. 45-48, 2015.
47. WANG, D.; LIPPARD, S.J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. **Nat Rev Drug Discov.** v. 4, p. 307-20, 2005.
48. WISNIEWSKA-JAROSINSKA, M.; SLIWINSKI, T.; KASZNICKI, J.; KACZMARCZYK, D.; KRUPA, R.; BLOCH, K.; DRZEWOSKI, J.; CHOJNACKI, J.; BLASIAK, J.; MORAWIEC-SZTANDERA, A. Cytotoxicity and

- genotoxicity of capecitabine in head and neck cancer and normal cells. **Molecular Biology Reports** v. 38, p. 3679-3688, 2011.
49. **World Health Organization/Cancer.** Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>. Acesso em 23 de março 2017.
 50. WOZNIAK, K.; CZECHOWSKA, A.; BLASIAK, J. Cisplatin-evoked DNA fragmentation in normal and cancer cells and its modulation by free radical scavengers and the tyrosine kinase inhibitor STI571. **Chem Biol Interact.** v. 147, p. 309–318, 2004.
 51. XIAN, C.J.; COOL, J.C.; PYRAGIUS, T.; FOSTER, B.K. Damage and recovery of the bone growth mechanism in young rats following 5-fluorouracil acute chemotherapy. **Journal of Cellular Biochemistry** v. 99, p. 1688-1704, 2006.
 52. YOSHIHARA, A.; SUGITA, N.; IWASAKI, M.; WANG Y.; MIYAZAKI H.; YOSHIE, H.; NAKAMURA, K. Relationship between renal function and periodontal disease in community-dwelling elderly women with different genotypes. **J Clin Periodontol**, v.44. p. 484-489, 2017
 53. ZHANG, J.; LIU, L.; GONG, Y.; ZHENG, X.; YANG, M.; CUI, J.; SHEN, S. Synthesis, characterization and antitumor activity of new type binuclear platinum(II) complexes. **Eur J Med Chem.**v. 44, p. 2322-2327, 2009.