



ANDRÉA ENGRACIA RUIZ

**AVALIAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES ORAIS, SUA INFLUÊNCIA NO
TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS E A IMPORTÂNCIA
DA MELATONINA COMO BIOMARCADOR DE PROGNÓSTICO**

Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestre em Biociências,
Área de Concentração Genética.

Andréa Engracia Ruiz

Avaliação das complicações orais, sua influência no transplante de células tronco hematopoéticas e a importância da melatonina como biomarcador de prognóstico



Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências, Área de Concentração: Genética, junto ao programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

São José do Rio Preto

2017

Ruiz, Andréa Engracia.

Avaliação das complicações orais, sua influência no transplante de células tronco hematopoéticas e a importância da melatonina como biomarcador de prognóstico / Andréa Engracia Ruiz. -- São José do Rio Preto, 2017

80 p. : il., grafs., tabs.

Orientador: Milton Artur Ruiz

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Genética. 2. Terapia celular. 3. Imunossupressão. 4. Melatonina. 5. Boca – Infecções. 6. Células-tronco. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. II. Título.

CDU – 575

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE

UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

ANDRÉA ENGRACIA RUIZ

Avaliação das complicações orais, sua influência no transplante de células tronco hematopoéticas e a importância da melatonina como biomarcador de prognóstico

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biociências, Área de Concentração: Genética, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Milton Artur Ruiz
UNESP – São José do Rio Preto

Profa. Dra. Flavia Cristina Rodrigues Lisoni
UNESP – Ilha Solteira

Prof. Dr. Rubens Camargo Siqueira
USP – Ribeirão Preto

São José do Rio Preto

02/03/2017

DEDICATÓRIA

*Aos meus amados pais,
Adenir Doraci Calanca Ruiz (in memoriam) e
Bazilio Marcelino Ruiz
pelo apoio constante e amor infinito.*

*Ao meu marido e companheiro de sempre,
impossível imaginar minha vida sem sua presença.
Você é um ser iluminado, raro e especial,
com uma capacidade incrível de amar e encantar com sua alegria irradiante.
Sempre digo que é um privilégio conviver com você, Mauricio.
Obrigada pela dedicação e estímulo sempre.*

*Lucas e Carolina, filhos queridos, impossível descrevê-los...
Vocês são iluminados e, sendo assim, vão iluminando todos ao redor.
Amo vocês, incondicionalmente!!!*

*Ao meu orientador Prof. Dr. **Milton Artur Ruiz**, profissional e pessoa incrível, agradeço pelos ensinamentos transmitidos, pelos conselhos e ajudas nas tomadas de decisões e pelo agradável convívio ao longo desses anos.*

Obrigado pela dedicação, respeito e confiança dedicados a mim.

Espero continuar aprendendo muito com você ainda.

“O céu é o limite!”

AGRADECIMENTOS

À Deus, inteligência suprema do Universo, causa primária de todas as coisas, por permitir o progresso contínuo de seus filhos.

Ao amigo Lucas Ribeiro Azevedo pelo direcionamento, paciência nos momentos críticos, por todas as horas de convivência e aprendizado que contribuíram para meu crescimento científico; à sua família por permitir tal dedicação e apoio nos momentos de ansiedade e alegrias.

À Profa. Dra. Fernanda Gaspar do Amaral meus sinceros agradecimentos pela valiosa contribuição na realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Débora Zuccari e equipe por cederem o laboratório de Biomarcadores de Contaminação Ambiental para a realização de alguns dos experimentos deste trabalho.

A todos os professores do programa de Pós Graduação em Genética por partilharem conhecimento e experiência.

A todos os meus pacientes por permitirem reciprocidade e confiança aos tratamentos me proporcionando êxito.

À equipe multidisciplinar da TMO, pela paciência, atenção e auxílio na realização das técnicas utilizadas no projeto. O envolvimento do grupo certamente foi fundamental para que este trabalho pudesse ser realizado.

À seção técnica de pós-graduação, pelo auxílio e condolência em todas as questões burocráticas.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Jamais considere seus estudos como uma obrigação,
mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da
beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal
e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.”*
(Albert Einstein)

RESUMO

O transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) constitui uma importante opção terapêutica para pacientes com doenças onco-hematológicas, autoimunes e alguns tumores sólidos; caracteriza-se pela infusão intravenosa de células progenitoras hematopoéticas com o objetivo de restabelecer a função medular e imunológica. No entanto, esse procedimento requer imunossupressão o que favorece o desenvolvimento de complicações, principalmente infecciosas, as quais frequentemente se manifestam ou se originam na cavidade bucal podendo ser causadora de infecções sistêmicas. O estado de saúde bucal do paciente submetido ao TCTH tem sido considerado como um fator que interfere diretamente no grau de morbimortalidade. A mucosite representa o principal fator de risco para as infecções sistêmicas e está entre as complicações de maior relevância. Uma vez que existe uma relação direta entre inflamação crônica e muitas doenças emergentes, tem se destacado o estudo da melatonina (MEL), um hormônio fabricado pela glândula pineal, que pode ser capaz de proteger não somente a cavidade bucal, mas todo o organismo dos radicais livres produzidos por processos inflamatórios e infecciosos. O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência e os fatores de risco desencadeadores das infecções odontogênicas, lesões da mucosa oral, estabelecendo um índice de complicações orais (ICO-TCTH) e sua relação com a concentração de melatonina extraída da saliva dos pacientes, doenças de base e tipo de transplante; considerando a aplicabilidade desse hormônio como um biomarcador prognóstico nos pacientes submetidos ao TCTH. Os resultados obtidos permitiram concluir que o acompanhamento odontológico destes pacientes condiciona maior índice de sucesso ao TCTH, o uso da laserterapia principalmente quando associamos um possível biomarcador prognóstico. As manifestações orais ao precederem o aparecimento de uma doença de base, são passíveis de serem consideradas úteis no desenvolvimento de um diagnóstico diferencial e precoce em especial na Doença de Crohn que pode anteceder até sete anos a manifestação intestinal da doença. A melatonina nos dá a possibilidade de referenciá-la neste cenário como um biomarcador prognóstico, já que os pacientes que possuem um baixo risco para complicações orais obtiveram uma maior expressividade deste hormônio.

Palavras-chave: Terapia celular, infecções odontogênicas, imunossupressão, melatonina.

ABSTRACT

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is an important therapeutic option for patients with onco-hematological, autoimmune and some solid tumors; It is characterized by the intravenous infusion of hematopoietic progenitor cells with the objective of restoring the medullary and immunological function. However, this procedure requires an effect of complications, mainly infectious, how often they manifest or originate in the oral cavity and can be the cause of systemic infections. The state of oral health of patients submitted to HSCT has been considered as a factor that directly interferes with the degree of morbidity and mortality. Mucositis represents the main risk factor for systemic infections and is among the most relevant complications. Since there is a direct relationship between chronic inflammation and many emerging diseases, a melatonin (MEL) is a hormone made by the pineal gland, which may be able to protect not only an oral cavity, but the entire body of free radicals produced by processes Inflammatory and infectious. The objective of this study is to evaluate the prevalence and risk factors of odontogenic infections, lesions of the oral mucosa, to meet the oral complications index (ICO-HSCT) and to relate it to the concentration of melatonin extracted from the patient's saliva , Underlying diseases and type of transplant presenting an oral cavity treatment plan that may interfere with no transplant success; One might advocate this hormone as a prognostic biomarker for patients who received the HSCT. The results obtained allowed us to conclude that dental patient's condition greater success rate in HSCT, the use of laser therapy when we associate a possible prognostic biomarker. As oral manifestations preceding the onset of a basic disease, they may be considered useful in the development of a differential and early diagnosis especially in Crohn's Disease that can precede up to seven years an intestinal manifestation of the disease. The melatonin gives us the possibility of reference in a scenario as a prognostic biomarker, since the patients who are at low risk for oral complications have greater expressiveness of this hormone.

Key words: Cell therapy, odontogenic infections, immunosuppression, melatonin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Representação das lesões típicas encontradas em pacientes antes e após laserterapia	37
Figura 2.	Método HPLC (High Performance Liquid Chromatography) para detecção de melatonina (MEL) na saliva	39
Figura 3.	Ensaio imunoenzimático (ELISA) para determinação da concentração de melatonina (MEL) salivar	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Padronização referente ao índice de complicações orais (ICO) 32

Tabela 2. Características demográficas e clínicas dos pacientes avaliados38

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

[MEL]	Concentração de melatonina
AA-NAT	N-acetil-transferase
ALB	<i>Albumin</i> (Albumina)
ALO	Alogênico
AUT	Autólogo
C	<i>Caucasoid</i> (Caucasóide)
Ca ²⁺	Cálcio
CALP	<i>Calprotectin</i> (Calprotectina)
CD4	<i>Cluster of differentiation</i> (Grupamento de diferenciação 4)
CDAI	<i>Clinical Disease Activity Index</i> (Índice da atividade da DC)
Cl-	Cloro
COX2	Cicloxigenase 2
CRP	<i>C-Reactive Protein</i> (Proteína C reativa)
Cy	Ciclofosfamida
DC	Doença de Crohn
DECH	Doença do Enxerto contra o Hospedeiro
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (Ácido desoxirribonucléico)
DOH	Doença Onco-Hematológica
EK-DSM	Kit Elisa- Manual Diagnóstico e Estatístico
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> (Ensaio de Imunoabsorção Ligado à Enzima)
ERO	Espécies reativas de oxigênio
F	<i>Female</i> (Feminino)

G-CSF	Fator estimulante de colônia de granulócitos
HCO ₃	Bicarbonato
HIOMT	Hidroxi-indol-O-metiltransferase
HLA	Antígeno de histocompatibilidade leucocitária
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
H ₃ PO ₂ ⁻	Fosfato
HSS	<i>Haematological Scoring System</i> (Hemossedimentação)
ICO-TCTH	Índice de Complicações Orais no TCTH
IFN- γ	Interferon gama
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina B
IL-	Interleucina
K ⁺	Potássio
LH	Linfoma de Hodgkin
LLA	LeucemiaLinfóide Aguda
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
LMC	Leucemia Mielóide Crônica
LNH	Linfoma não Hodgkin
LT	Laserterapia
M	<i>Male</i> (Masculino)
MEL	Melatonina
Mg ²⁺	Magnésio
MM	Mieloma Múltiplo
MPOST	Melatonina pós-TCTH
MPRE	Melatonina pré-TCTH

MT1	Receptores de membrana (MEL)
MT2	Receptores de membrana (MEL)
Na ⁺	Sódio
N-C	<i>Non-caucasoid</i> (Não Caucasoide)
NF-κB	Fator nuclear kapa-beta
NH ₃	Amônia
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
p53	Proteína supressora tumoral
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> (ácido ribonucleico)
Sine qua non	Indispensável, essencial
TCTH	Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas
T _h	<i>T helper</i>
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor</i> (Fator de necrose tumoral)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1. A influência da saúde bucal nas infecções	20
2. Controle de infecções no TCTH	21
3. A relevância do tratamento bucal no TCTH	22
4. A mensuração da melatonina na saliva e seu uso como biomarcador prognóstico.....	23
5. Justificativa	26
2. OBJETIVOS.....	27
1. Objetivos gerais	28
2. Objetivos específicos	28
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	29
1. Caracterização do estudo	30
2. Critérios de inclusão e exclusão	30
3. Descrição da metodologia do TCTH.....	30
4. Avaliação clínica odontológica	31
5. Lesões e manifestações bucais	31
6. Coleta das amostras de saliva.....	33
7. Detecção de melatonina por High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	33
8. Análise da melatonina salivar por ensaio imunoenzimático (ELISA)	33
9. Análise estatísticas	34
4. RESULTADOS.....	35
1. Características demográficas e clínicas da amostra	36
2. Resultados da detecção da melatonina salivar	39
5. DISCUSSÃO.....	41
6. CONCLUSÃO	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
8. APÊNDICES	56
1. Artigo submetido à revista CLinical Oral Investigations.....	57
9. ANEXOS.....	71

1. INTRODUÇÃO

1.1. A influência da saúde bucal nas infecções

A saúde bucal é essencial para a saúde geral e qualidade de vida. Lesões orofaciais, infecções orais e feridas, limitam a capacidade de um indivíduo em morder, mastigar, sorrir, falar e desfrutar de um bem-estar psicossocial e desfrutar de seu bem-estar, que, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), é definida por estar livre de desordens, como a dor (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998).

Fatores de risco para doenças orais incluem uma dieta pouco saudável uso de tabaco e álcool (SCARDINA; MESSINA, 2012). Dentre as principais que acometem a boca, destaca-se as Doença Periodontal, um grupo de afecções inflamatórias de origem infecciosa que afetam os tecidos de sustentação do dente e são definidas como gengivite e periodontite. A gengivite é uma inflamação resultante da toxicidade do biofilme, com sangramento espontâneo. A periodontite é uma doença destrutiva e progressiva que destrói os ligamentos periodontais e o osso alveolar. No caso de infecções periodontais, a infecção inicia em uma bolsa periodontal profunda, possibilitando a inoculação de bactérias (*Streptococcus viridans*) em sítios mais profundos (SANTOS; MAGALHÃES, 2006; ZEKONIS; ZEKONIS, 2004)

Assim, infecções dentárias e orais são originadas nos tecidos dentais ou de suporte, frequentemente relacionadas à cárie dental, gengivites, periodontites, necrose pulpar e pericoronarites (SATO et al., 2009). A etiologia dessas infecções é determinada pela ação conjunta de microrganismos e biofilme dental que resulta no rompimento das barreiras imunológicas locais, atingindo a corrente sanguínea e outros órgãos alvos (FLYNN, 2011). Nessas condições, microrganismos anaeróbicos facultativos, como *Streptococcus sp*, e bactérias anaeróbicas estritas são os mais frequentemente encontrados (VELASCO M; SOTO N, 2012).

As lesões endodônticas são resultantes da invasão de bactérias no interior da câmara pulpar, onde os microorganismos superam as defesas do hospedeiro e provocam alterações pulpares e periapicais (SANTOS; MAGALHÃES, 2006). Historicamente, o potencial de propagação dos abscessos odontogênicos causando septicemia e morte é bem conhecido. Contudo o papel bacteriano como agente etiológico nestes processos não foi reconhecido até o início do século 20 (GENDRON; GRENIER; MAHEU-ROBERT, 2000).

De modo geral, as características anatômicas da região oral e maxilofacial facilitam a disseminação da infecção à distância do foco inicial. A proximidade e continuidade com os planos e fáscias musculares, assim como as características peculiares da vascularização da face, fazem com que a infecção possa acometer regiões distantes em curto prazo de tempo (MATHEW et al., 2012). Geralmente, essas infecções respondem a antimicrobianos e uma vez

que a farmacodinâmica da penicilina permanece relativamente elevada, ela pode fazer parte do arsenal para tratamento de infecções odontogênicas maxilo-faciais (RASTENIENĖ et al., 2015). Há também a possibilidade de intervenção, é frequente a disseminação infecciosa para o seio cavernoso, espaços fasciais profundos ou outras estruturas vitais (CHOW, 2014; MATHEW et al., 2012; RASTENIENĖ et al., 2015).

Desse modo, estas infecções complexas podem causar comprometimento das vias aéreas superiores, disseminação para o mediastino e septicemia (SETHI; MURPHY, 2008). Além disso, doenças sistêmicas e, principalmente, pacientes submetidos à quimioterapia ou que fazem uso prolongado de corticosteroides apresentam chances aumentadas de imunossupressão, aumentando o risco de agravamento dos casos de infecção (MATHEW et al., 2012; SUEHARA et al., 2008).

1.2. Controle de infecções no TCTH

O transplante de célula-tronco hematopoiética (TCTH) é o procedimento clínico que visa substituir a medula óssea deficitária por células tronco hematopoiéticas progenitoras vindas do sangue periférico por infusão intravenosa buscando restabelecer a função medular e imunológica (MOSAAD, 2014). Dentre as doenças indicadas para o tratamento por meio de TCTH estão incluídas: 1) Doenças onco-hematológicas, como Leucemia mielóide aguda e crônica; Leucemia linfóide aguda; Linfoma de Hodgkin; Linfoma não Hodgkin e o Mieloma múltiplo, 2) Doenças Autoimunes, como a Doença de Crohn, Esclerose Múltipla e o Lúpus eritematoso sistêmico; 3) Doenças Hematológicas hereditárias, adquiridas e imunodeficiências primárias ou secundárias, como a Anemia falciforme e a Talassemia; e 4) Doenças Oncológicas como tumores de ovário e testículo.

Para a realização do transplante, o paciente recebe altas doses de quimioterapia, no regime de condicionamento ou preparativo (MONTASSIER et al., 2014), com o propósito de imunossuprimir o receptor, e erradicar as células malignas residuais e preparar o espaço para recuperar a mielopoiese com as células do doador após a “pega do enxerto”. A escolha do regime quimioterápico depende do diagnóstico, do estágio da doença de base e da fonte de células-tronco, devendo ser escolhido o regime menos tóxico possível, mas também com doses suficientes para que não ocorra recidiva da doença (COPELAN, 2006). Contudo, deve ser considerada a individualidade de cada organismo, que apresenta seu perfil farmacocinético e farmacodinâmico, com consequentes alterações no efeito e toxicidade de cada um dos agentes medicamentosos empregados (MENDELSON, 2013)(MENDELSON, 2013).

As principais complicações decorrentes do TCTH são as infecções, sangramento e a anemia. Outros problemas incluem os efeitos tóxicos extramedulares do regime de

condicionamento, sendo os principais; a doença venoclusiva hepática, a pneumonite intersticial, as infecções virais, as anormalidades endocrinológicas, a rejeição do enxerto e o desenvolvimento das doenças do enxerto contra o hospedeiro (DECH) tanto a aguda quanto a crônica, as quais ocorrem em aproximadamente 60% dos casos do TCTH alogênico (KASHIWAZAKI et al., 2012a).

1.3. A relevância do tratamento bucal no TCTH

Lesões como restos radiculares, bolsas periodontais, lesões periapicais e próteses removíveis são considerados reservatórios de organismos patogênicos oportunistas que podem desencadear infecções durante a imunossupressão (NEVILLE et al., 2009; WATTERS; EPSTEIN; AGULNIK, 2011). As complicações em decorrência de infecções bucais podem ocorrer em qualquer fase do transplante e podem causar problemas significativos, como complicações sistêmicas, aumentando não apenas o custo do tratamento como a taxa de mortalidade (DA SILVA SANTOS et al., 2011; SCHUBERT; SULLIVAN, 1990). Por isso, a prevenção ou redução do risco de complicações sistêmicas em pacientes que recebem o transplante requer a estabilização ou eliminação de infecções bucais antes do início do transplante ou da terapia mielossupressora, pois a condição de imunossupressão do paciente favorece a agudização de problemas bucais prévios, no transcorrer do TCTH (SCHUBERT; SULLIVAN, 1990; SCULLY, 2010).

As infecções odontogênicas agudas geralmente são tratadas antes do TCTH, mas lesões periapicais e periodontais crônicas podem ser negligenciadas pelo comportamento clínico assintomático (TROELTZSCH et al., 2015). Alguns autores propõem que infecções crônicas podem evoluir e se tornarem agudas (PALMASON; MARTY; TREISTER, 2011). Outros afirmam que pode haver recrudescimento durante o regime de condicionamento (GÜRGAN et al., 2013).

Sabendo que os pacientes em preparo para TCTH não possuem um sistema imunológico íntegro devemos considerar que a susceptibilidade à disseminação de infecções odontogênicas está aumentada, inclusive pela deficiência das imunoglobulinas salivares pouco expressas pela hipossalivação decorrente dos efeitos citotóxicos dos quimioterápicos resultando em aumento na atividade de cárie. A patogenicidade das bactérias de baixa virulência em indivíduos normais é exacerbada nos pacientes submetidos ao TCTH com o aumento de infecções oportunistas (SANTOS; MAGALHÃES, 2006; VANHOECKE et al., 2015). Pacientes em programação para TCTH também apresentam, ainda, maior risco de desenvolver cáries por apresentarem xerostomia e conseqüentemente diminuição das imunoglobulinas IgA e IgG na saliva (DOBR et al., 2007; SANTOS; MAGALHÃES, 2006). Desse modo, a remoção

mecânica do biofilme é essencial no preparo para o TCTH, assim como o acompanhamento de rotina, que reduzem a quantidade de microrganismos, a intensidade da mucosite, os episódios de febre, gripe e pneumonia aspirativa (KASHIWAZAKI et al., 2012b).

A evolução da mucosite é complexa, consequência de uma cascata de eventos biológicos citotóxicos podendo favorecer as infecções oportunistas (LALLA; SONIS; PETERSON, 2008). Ela varia entre os pacientes em decorrência do tipo de TCTH e da doença tratada. Pode ser dividida em cinco fases: iniciação, resposta primária ao dano, amplificação de sinais, ulceração e cicatrização. A fase inicial (fase I) o DNA é lesado, assim tanto as células epiteliais quanto as do tecido conjuntivo são agredidas por inibição da topoisomerase e síntese de timidilato podendo alterar o RNA levando a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), afetando em particular o epitélio e os vasos sanguíneos. Na resposta primária ao dano, (fase II), o DNA lesionado irá ativar vias de transduções e transcrições de fatores como p53 e fator nuclear kapa-beta (NF- κ B) que estimulam a produção de citocinas pró- inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-1 β e IL-6. A presença dessas proteínas agride precocemente o tecido conjuntivo, o endotélio e reduz a oxigenação epitelial, culminando com a morte das células basais do epitélio e causando injúria tecidual. A fase III é o resultado da ativação e da autorregulação das citocinas pró-inflamatórias, que respondem com injúrias nos fibroblastos, portanto no epitélio e endotélio. No estágio ulcerativo (fase IV), a mucosa perde sua integridade, causando lesões que promovem a colonização bacteriana do epitélio, induzindo uma bacteremia ou sepse em neutropênicos. Na fase V, denominada de cicatrização, o processo é biologicamente dinâmico, onde as células epiteliais migram, crescem, diferenciam-se e os sintomas começam a diminuir (SONIS, 2004).

A OMS definiu a gradação da mucosite oral de acordo com a severidade da mesma, estabelecendo um escore baseado em dados clínicos, constituído por cinco graus (0 a 4), onde o grau zero é utilizado para designar a mucosa com aspecto normal, o grau 1 é atribuído à presença de eritema e ardor, o grau 2 representa a ocorrência de eritema, úlceras pouco extensas e capacidade do paciente para ingerir alimentos sólidos, o grau 3 caracteriza a presença de úlceras pouco extensas e capacidade de ingerir apenas alimentos líquidos, finalmente o grau 4 categoriza a presença de úlceras extensas e impossibilidade de deglutição (BARRACH et al., 2015).

1.4. A mensuração da melatonina na saliva e seu uso como biomarcador prognóstico

A saliva nos humanos está envolvida na saúde da nossa cavidade oral, é produzida principalmente nas glândulas parótidas, sublinguais e submandibulares. (CHIAPPIN et al., 2007). Ela é composta predominantemente por água, sendo 99% da sua composição. Os

constituintes inorgânicos são íons, como o Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , H_3PO_2 , HCO_3^- , Mg^{2+} e NH_3 ; os constituintes orgânicos são produtos dos fluidos corporais (uréia, ácido úrico, creatinina), produtos de putrefação (putrescina e cadaverina), lipídeos (colesterol e ácidos graxos) e mais de 400 tipos de proteínas (LIU; DUAN, 2012). Essas proteínas fazem parte do aparato de “defesa” da saliva, encontramos grande quantidade de IgA e menor quantidade de IgG. A primeira, que corresponde a mais de 85% das imunoglobulinas na saliva, é produzida diretamente pelos linfócitos B presentes nas glândulas salivares. Adicionalmente, a saliva contém proteínas locais e outras substâncias que podem ser indicadores de doenças, os biomarcadores. Uma das principais vantagens de usar a saliva para exames é que sua coleta é fácil e não invasiva, eliminando a dor e desconforto de uma coleta sanguínea (LAWRENCE, 2002). Quanto à coleta da saliva, a mesma pode ser realizada de maneira estimulada ou não. Deve ser observado o horário exato das coletas, não escovar os dentes antes, não usar gomas de mascar, não ingerir líquidos até 30 minutos antes, e lavar a cavidade oral com água. A forma de coleta estimulada está associada a mudanças na composição da saliva. Mesmo a forma não estimulada pode ter o fluxo influenciado por outras condições, como o exercício físico ou o ciclo circadiano (CHIAPPIN et al., 2007; THAPAN; ARENDT; SKENE, 2001). Devido ao surgimento de novas técnicas de análise, o modo mais prático de coletar com melhor custo-benefício podendo ser feito pelo próprio paciente, é o da saliva total que além de sua fácil coleta é nada invasivo (LIU; DUAN, 2012).

Além do seu importante papel na umidificação e pré-digestão de alimentos, a saliva é um componente fundamental da saúde da cavidade oral, por participar da proteção da mucosa contra danos mecânicos e induzir a remineralização do esmalte dentário (KASHIWAZAKI et al., 2012a) além de possuir em sua constituição diversos componentes proteicos (LIU; DUAN, 2012) e hormonais. A saliva vem sendo usada no diagnóstico e/ monitorização de infecções virais (BELZA et al., 2012; BOPPANA et al., 2011; MILLER et al., 2006). O estudo de infecções bacterianas na saliva vem sendo usado no diagnóstico das periodontites (KURATA et al., 2008); a concentração de creatinina salivar parece predizer as doenças renais (TOMÁS et al., 2008), 2008); alterações salivares vem sendo estudadas nos pacientes com carcinoma de cabeça e pescoço, principalmente o carcinoma escamoso oral (BERNABE et al., 2012), pâncreas (ZHANG et al., 2010a), pulmão (XIAO et al., 2012), próstata (SHIIKI et al., 2011), ovário (LEE et al., 2012) e mama (ZHANG et al., 2010b). Na psiquiatria, ela pode ser usada para monitorar a resposta ao tratamento em distúrbios da ansiedade, no diagnóstico de transtorno do estresse pós-traumático (APFEL et al., 2011) e depressão (BOCKTING et al., 2012). Entre os componentes hormonais da saliva estão presentes: o cortisol, a de-hidroepiandrosterona, o estradiol, o estriol, a progesterona, a testosterona (STRECKFUS et al.,

2012), o hormônio do crescimento (CHIAPPIN et al., 2007) e a melatonina (RÖMSING; BÖKMAN; BERGQVIST, 2006).

A melatonina (MEL) é produzida, em sua maior parte, pela glândula pineal, presente no cérebro. Fontes extrapineais deste hormônio incluem: o trato gastrointestinal, a pele, plaquetas, retina, leucócitos, medula óssea e provavelmente outros tecidos e estruturas, como o timo, o fígado, os rins, o pâncreas e o coração (CLAUSTRAT; BRUN; CHAZOT, 2005; VENEGAS et al., 2012). A produção de MEL segue um padrão rítmico, com pico secretório no período noturno, atingindo níveis plasmáticos máximos entre três e quatro horas em humanos, e quase nenhuma produção no período diurno (ESPINO; PARIENTE; RODRÍGUEZ, 2012; RAVINDRA; LAKSHMI; AHUJA, 2006). É sintetizada a partir da conversão do aminoácido triptofano em serotonina, que é acetilada em N-acetilserotonina, na reação catalisada pela enzima n-acetil-transferase (AA-NAT) e então convertida em melatonina pela enzima hidroxindol-O-metiltransferase (HIOMT). A melatonina exerce alguns dos seus efeitos fisiológicos através de receptores de membrana. Estes receptores são encontrados associados proteína G denominados MT1 e MT2. Esses receptores são encontrados em diversos tecidos, incluindo sistema nervoso central, trato gastrointestinal, pulmão, mama, pele, glândula adrenal, coração, vasos sanguíneos, células do sistema imune, entre outros (DUBOCOVICH; MARKOWSKA, 2005). Esse hormônio influencia o ritmo de vários processos fisiológicos durante a noite: a digestão torna-se mais lenta, a temperatura corporal cai, o ritmo cardíaco e a pressão sanguínea diminuem e o sistema imunológico é estimulado (FERREIRA et al., 2010). Sabe-se que a alteração do ritmo circadiano da melatonina aumenta a incidência de alguns tipos de tumores que se correlacionam com o risco elevado desta doença em trabalhadores noturnos, e, de idêntica razão, baixo risco em mulheres cegas (STEVENS et al., 2014). Dessa forma o potencial terapêutico da melatonina ultrapassa o tratamento dos distúrbios do sono, e exibe propriedades neuroprotetoras e antitumorais em muitas condições experimentais (DOMINGUEZ-RODRIGUEZ, 2012). A melatonina também foi relatada como eficaz nos casos de doença de Alzheimer (SRINIVASAN et al., 2008), obesidade (PRUNET-MARCASSUS et al., 2003) e doenças cardiovasculares (DOMINGUEZ-RODRIGUEZ, 2012) e doenças ósseas (SÁNCHEZ-BARCELÓ et al., 2010).

Em sua capacidade antioxidante, a melatonina e seus metabólitos, também podem atuar por mecanismos independentes de seus receptores de membrana, exibindo propriedades anti-inflamatórias (TAHAN et al., 2011). A inflamação é um fenômeno complexo que envolve múltiplas interações celulares e moleculares, as quais tem que ser bem reguladas para que a resposta seja eficiente e não acarrete prejuízos para os tecidos do hospedeiro. A cicloxigenase

2 (COX-2) é uma chave para a biossíntese de prostaglandinas a partir do ácido aracdônico, ela tem um papel crítico na resposta inflamatória, e sua expressão excessiva está associada ao agravamento de várias doenças. A melatonina tem a estrutura semelhante a Cox-2 e por isso pode se ligar ao seu sitio ativo, atuando como um inibidor natural das funções dessa enzima, modulando de maneira natural a sua atividade (DE LA ROCHA et al., 2007; MAYO et al., 2005).

A poderosa ação antioxidante da melatonina é atribuída conjuntamente à propriedades anti-carcinogênicas e oncostáticas (SLIWINSKI et al., 2007). É capaz de detoxicar uma variedade de radicais livres e espécies reativas de oxigênio. Ela também protege diretamente as células somáticas e germinativas com o acúmulo de mutações devido ao processo de envelhecimento e induzidas por uma série de drogas ou substâncias químicas tóxicas ao organismo como a ciclofosfamida (Cy) (ANISIMOV et al., 2006). Vários trabalhos têm evidenciado que a melatonina apresenta propriedades antineoplásicas em alguns tipos de câncer inclusive, emergindo também como uma nova opção terapêutica (DI BELLA et al., 2013).

Por ser lipossolúvel, a melatonina pode atravessar diretamente qualquer membrana celular e interagir com proteínas intracelulares (RODRIGUEZ et al., 2004a). Uma possível explicação, portanto da sugestão da MEL como biomarcador prognóstico se baseia no seu envolvimento em inúmeras funções fisiológicas e sua inibição pode comprometer a homeostase (LI et al., 2013).

JUSTIFICATIVA

Assim, nesse estudo, buscamos avaliar a prevalência e os fatores de risco desencadeadores das infecções odontogênicas, lesões da mucosa oral, estabelecendo um índice de complicações orais (ICO-TCTH) e relacioná-lo com doenças de base e tipo de TCTH e a concentração de melatonina salivar visando referenciá-la como um biomarcador prognóstico contribuindo para a efetividade dos resultados do TCTH. Parece-nos de suma importância à avaliação odontológica de pacientes que vão ser submetidos ao transplante de medula óssea para detecção e remoção de focos infecciosos bucais que possam se transformar em porta de entrada e uma possível fonte de bacteremia e septicemia, visto que a presença de uma má saúde bucal pode estar relacionada ao insucesso do transplante.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Determinar os fatores de risco desencadeados pelas infecções odontogênicas como sitio de possíveis complicações para os pacientes submetidos ao TCTH e apresentar um protocolo de avaliação odontológica propondo um maior esclarecimento científico acerca da importância da cavidade oral e sua influência no sucesso do TCTH.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Estabelecer um índice de complicações orais (ICO-TCTH)

2.2.2. Relacionar com a concentração de melatonina extraída da saliva dos pacientes, doenças de base e tipo de transplante apresentando um plano de tratamento da cavidade oral que possa interferir no sucesso do transplante

2.2.3. Propor a melatonina como um biomarcador prognóstico nos pacientes que receberam o TCTH.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Caracterização do estudo

O estudo foi caracterizado como uma pesquisa clínica observacional prospectiva com o intuito de verificar a prevalência de alterações estomatológicas de pacientes em preparo para TCTH e a associação desses parâmetros com os níveis salivares de melatonina. O período de coletas proposto foi de janeiro a dezembro de 2016 sendo observado consecutivamente pacientes em demanda ao procedimento no Hospital Infante Dom Henrique da Associação de Beneficência Portuguesa, em São José do Rio Preto. Foram avaliados 20 pacientes, sendo que o atendimento odontológico foi realizado em consultório, enquanto os pacientes aguardavam internação, ou nos leitos hospitalares quando já internados. Todos os pacientes foram submetidos aos protocolos de avaliação e de seguimento, e os resultados que foram apresentados derivaram do atendimento médico da unidade. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Instituto de Moléstias Cardiovasculares (IMC) de São José do Rio Preto (Processo FR- 364139/2010).

3.2. Critérios de inclusão e exclusão

Os pacientes considerados aptos a participarem do estudo foram de ambos os sexos com indicação médica estabelecida para o TCTH. A especificidade de técnica em relação ao regime de mobilização e condicionamento seguiu protocolos específicos para os portadores de doenças autoimunes e hematológicas malignas. Por sua vez, foram excluídos dos estudo os pacientes sem indicação estabelecida ou com critérios de exclusão segundo os protocolos da unidade de TMO para o TCTH e, também, os pacientes que se negaram a participar da pesquisa científica proposta.

3.3. Descrição da metodologia do TCTH

O Transplante de Células Tronco Hematopoiético (TCTH) é um procedimento clínico que tem como base a reinfusão de células progenitoras com a finalidade reconstituir as funções da medula óssea. Podem ser realizadas para esse objetivo células de origem da medula óssea (tradicional), sangue periférico e do sangue do cordão umbilical.

Os procedimentos podem ser de células provenientes de um doador portanto Alogênico (ALO) ou do próprio paciente Autólogo (AUT). O procedimento alogênico consta da seleção de um doador que pode ser aparentado ou não. Pode ser totalmente compatível (full match) ou com compatibilidade parcial (mismatch) em relação ao antígeno de histocompatibilidade leucocitária (HLA). O paciente que recebe o TCTH alogênico é preparado, condicionado com

drogas quimioterápicas e ou imunossupressoras para erradicar a sua doença. Imunossuprimí-lo é condição *sine qua non* para enxertar a medula do paciente doador e tratar o mesmo.

O TCTH autólogo, no qual se usa as células do próprio paciente, existe a necessidade de aumentar as células colhidas. Isto é chamado de regime de mobilização; ex: o uso de qualquer droga quimioterápica associada a citocina como o fator estimulante de colônia de granulócitos (G-CSF) faz com que o número de células progenitoras aumente até 80 vezes em média no sangue periférico. Em seguida as células são coletadas em máquinas, que pelo processo denominado de aferésis, irá separar as células leucocitárias que serão criopreservadas em DMSO (Dimetilsulfóxido) 10%, e descongeladas no momento do TCTH (reinfusão). Os pacientes do TCTH (AUT) também serão submetidos ao regime de condicionamento igual ao alogênico antes de receberem as células.

Foram feitas avaliações odontológicas no período pré-transplante, durante o regime de mobilização e condicionamento nos pacientes submetidos ao TCTH autólogo e após o regime de condicionamento nos pacientes submetidos ao TCTH (ALO). Os eventos foram anotados, avaliados seguindo fichas padronizadas da Evolução Clínica Diária, onde constam exames bioquímicos: hemoglobina/hematócrito, leucócitos, neutrófilos, plaquetas, dos pacientes indicados ao TCTH.

3.4. Avaliação clínica odontológica

A classificação estomatognática de cada paciente foi estabelecida pelo índice de complicações orais (ICO-TCTH), segundo a padronização odontológica proposta (Tabela 1). A pontuação dada das alterações orais baseou-se em trabalhos anteriores, que davam maior ou menor grau de importância às alterações histopatológicas da cavidade oral, classificação de riscos e graus de toxicidade (DREIZEN et al., 1986; PARULEKAR et al., 1998; PUYAL CASADO et al., 2003; SONIS, 2004). Os pacientes foram classificados segundo o risco para complicações: baixo risco (até 20 pontos), médio risco (21 a 45 pontos) e grave (acima de 46 pontos).

3.5. Lesões e manifestações bucais

Quando encontradas lesões bucais, o tratamento dos pacientes com laser de baixa potência foi prontamente realizado em âmbito hospitalar. A resolução clínica após laserterapia (LT) se deram em todas as lesões com total regressão. A irradiação com luz laser apresentou as seguintes especificações: O comprimento de onda aplicado por meio da LT foi de 660 nm; a potência do laser foi de 15mW; sua densidade de energia foi de 3,8 J/cm² e o tempo de irradiação foi de 60 segundos de forma pontual duas vezes por semana.

CÁRIE	PONTOS – MÁXIMO DE 15
Ausência de cáries	0
Presença de 1 a 5 dentes cariados	5
Presença de 6 a 10 dentes cariados	10
Presença de mais de 11 dentes cariados	15
FRATURA	PONTOS – MÁXIMO DE 3
Ausência de fraturas	0
Presença de fraturas	3
BOLSAS GENGIVAIS – POR DENTE	PONTOS – MÁXIMO DE 15
Normal: ausência de sangramento	0
Bolsas gengivais de 3 mm a 5 mm	5
Bolsas gengivais de 6 mm a 8 mm	10
Bolsas gengivais acima de 8 mm	15
MOBILIDADE DENTAL – POR DENTE	PONTOS – MÁXIMO DE 10
Ausência de mobilidade dental	0
Leve (1 mm a 2 mm de perda de inserção clínica)	2
Moderada (3 mm a 4 mm de perda de inserção clínica)	5
Severa (maior que 5 mm)	10
EXODONTIA – POR DENTE	PONTOS – MÁXIMO DE 10
Sem indicação de exodontia	0
3º molares semi inclusos / inclusos, com histórico de pericoronarite	1
Indicação de exodontia / raiz residual / ausentes por extração	2
PRÓTESES	PONTOS – MÁXIMO DE 10
Ausência de próteses	0
Próteses totais	1
Próteses parciais removíveis sem grampo	2
Próteses parciais removíveis com grampo	3
Próteses fixas sobre dentes	4
Próteses fixas sobre implantes	5
Overdenture	8
Protocolo sobre Implante	10
APARELHOS ORTODÔNTICOS	PONTOS – MÁXIMO DE 2
Ausência de aparelhos ortodônticos	0
Presença de aparelhos ortodônticos	2
MANIFESTAÇÕES ORAIS DA DOENÇA DE BASE	PONTOS – MÁXIMO DE 5
Ausência de Lesões Oraais	0
Presença de Lesões Oraais	5
MUCOSITES – SEGUNDO A OMS	PONTOS – MÁXIMO DE 20
Ausência de mucosite	0
Mucosite grau I	5
Mucosite grau II	10
Mucosite grau III	15
Mucosite grau IV	20
INFECÇÕES	PONTOS – MÁXIMO DE 10
Ausência de infecções	0
Presença de infecções	10

Tabela 1. Padronização com pontuações referentes às complicações da cavidade oral (ICO).

Adaptada de Pupo et al. 2010.

3.6. Coleta das amostras de saliva

A coleta da saliva é um procedimento simples, realizada pelo próprio paciente em frasco apropriado, cuspidando diretamente dentro do recipiente. Para a coleta, foi orientado ao paciente que, com a boca fechada, deixasse acumular saliva durante 1 minuto e, após aproximar o frasco coletor cerca de meio palmo, cuspir sem escarrar, tampando o mesmo logo em seguida, repetindo o procedimento duas vezes. Foi elaborado um protocolo, que foi explicado a todos os pacientes, para que as coletas fossem uniformes. Os cuidados e orientações quanto à assepsia oral foram: realizar a coleta antes de escovar os dentes, comer ou beber; não fazer uso de nenhum medicamento (oral, transdérmico ou injetável) antes da primeira coleta (manhã); por um período de 30 minutos antes da coleta não foi permitido qualquer tipo de alimentação ou bebida (com exceção de água); e que a coleta não seria recomendável em caso de lesões orais com sangramento ativo.

Em todos os casos, a coleta salivar foi realizada entre 3:30 e 4:00 horas da manhã, horário de maior pico de síntese da MEL. As amostras de saliva foram envolvidas com papel alumínio para evitar o contato com a luz e, após serem identificadas com nome do paciente, data e horário da coleta, foram armazenadas no freezer.

3.7. Detecção de melatonina por High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

O material obtido foi, então, processado para a quantificação da melatonina pelo método de High performance liquid chromatography (HPLC). Diclorometano, na mesma quantidade de saliva, foi adicionado às amostras que, após agitação, foram centrifugadas (6500 rpm, 10 min). Em seguida, a fase inferior obtida foi seca em gás nitrogênio e ressuspendida em 100uL de tampão da fase móvel para verificação dos níveis de MEL. O tempo de retenção de 5,028 min foi determinado com 60uL de melatonina padrão (Sigma-Aldrich) na concentração de 100ng/mL.

3.8. Análise da melatonina salivar por ensaio imunoenzimático (ELISA)

Alternativamente, as concentrações de melatonina salivar foram determinadas pelo imunoensaio enzimático ELISA de acordo com as instruções do fabricante do kit (Direct Salivary Melatonin Elisa EK-DSM, Bühlmann Laboratories, Suíça). As amostras homogeneizadas (10% peso/volume) foram centrifugadas (4°C, 10.000 rpm, 15 min), o sobrenadante coletado e armazenado à -70°C até o momento das dosagens. As análises foram realizadas conforme os procedimentos de rotina do laboratório do Departamento de Fisiologia, sob responsabilidade da Prof^a. Dr^a. Fernanda Gaspar do Amaral, docente pela UNIFESP e com vasta experiência na mensuração de melatonina em amostras humanas.

3.9. Análise estatísticas

Para as variáveis sexo, idade, diagnóstico, tipo de transplante, foi utilizado o teste do Qui-quadrado ou exato de Fisher para comparação dos grupos. Para as variáveis cáries, bolsas gengivais, mobilidade dental, exodontias, próteses, fraturas, aparelhos ortodônticos, manifestações orais da doença de base, infecções bacterianas, virais, fúngicas e mucosite foi utilizado o teste de Mann-Whitney. A comparação entre os grupos em cada avaliação foi realizado pelo teste de Friedman e para comparação dos momentos dentro de cada grupo pelo teste de Fisher. O nível de significância utilizado foi cinco por cento ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1. Características demográficas e clínicas da amostra

Os dados descritivos dos pacientes avaliados podem ser vistos na Tabela 2. Em resumo, foram avaliados pacientes de ambos os sexos, com idade média em torno de 40 anos. Em sua maioria, caucasoides (90%), diagnosticados com doença de Crohn (DC) e que receberam transplantes autólogos. Não houve rejeição mesmo nos casos submetidos a transplantes alogênicos.

A mucosite foi diagnosticada em (10%) dos pacientes. Nos casos em que se observou mucosite oral severa (grau III e IV), a classificação do ICO-TCTH foi de alto risco. Curiosamente, os pacientes diagnosticados com Doença de Crohn (DC) obtiveram uma classificação de baixo risco e não apresentaram mucosite.

Algumas das lesões observadas nos pacientes e o resultado da laserterapia estão apresentados na Figura 1. Lesões orais características da DC como lesões liquenóides com aspecto de “pedras de calçada” e aftas foram pouco observadas, somente dois dos doze pacientes do grupo TCTH para DC as apresentaram. As mucosites foram observadas em dois dos oito pacientes do grupo do TCTH para doenças onco-hematológicas (DOH). A ausência de um ou mais dentes foram registradas em 75% dos casos com DOH, com registro de 62,5% de usuários de prótese dentária. Outros achados importantes, como as manifestações orais precoces da doença de base foram relatadas por 60% dos doentes de Crohn, porém apresentadas clinicamente no período do TCTH em somente em 16,6% dos casos dos pacientes que participaram deste estudo. Não houve rejeição do TCTH em nenhum dos casos.

Apenas dois pacientes apresentaram mucosite, ambos TCTH autólogos; mais especificamente a mucosite grau III, no paciente que apresentava Leucemia Mielóide Aguda LMA e diabetes e a mucosite grau IV que foi diagnosticada na paciente que apresentava Mieloma Múltiplo MM e grave comprometimento renal. A doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) foi diagnosticada em apenas um dos dois pacientes que receberam o TCTH alogênico. Todas as lesões obtiveram resolução clínica após laserterapia.

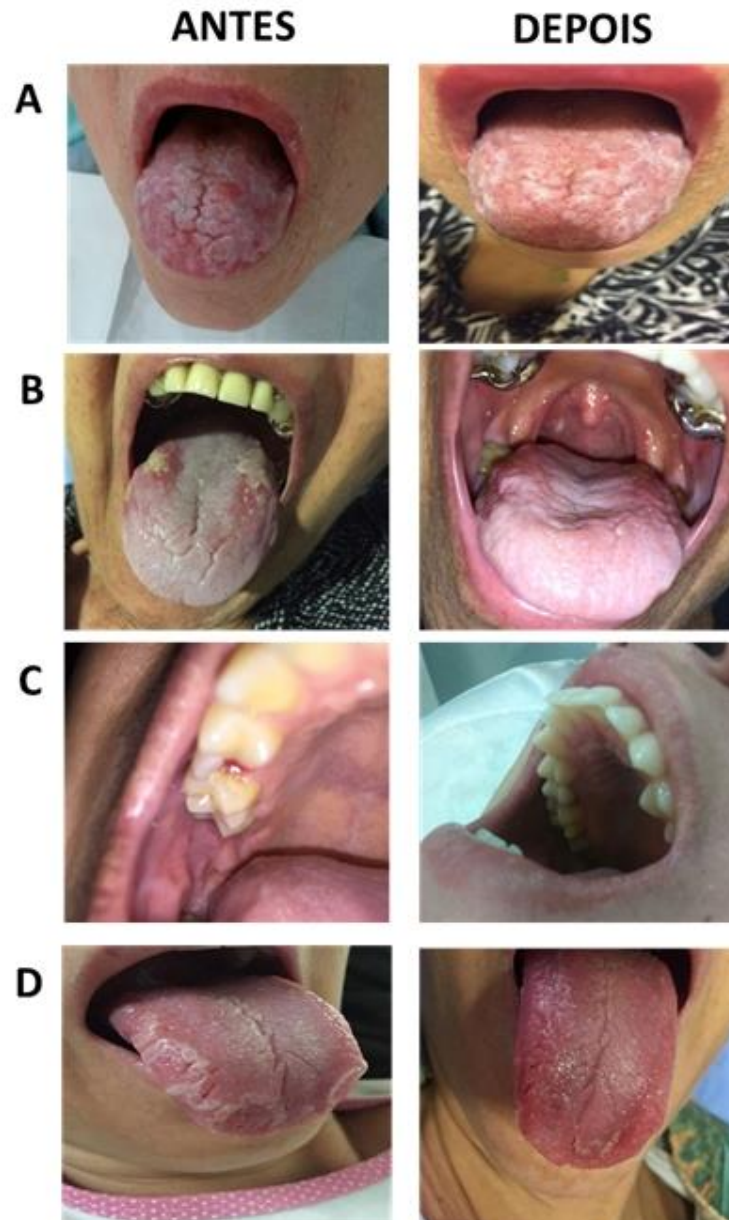


Figura 1. Representação das lesões típicas encontradas em pacientes antes e após laserterapia. A) Relacionadas a doença do enxerto contra hospedeiro (DECHc): hiperkeratose liquenóides, eritemas e atrofia; B) Mucosite grau IV; C) Fratura corono-radicular; D) Edema nodular oral relacionado à doença de Crohn (DC), com aspecto de “pedras de calçada”

Tabela 2 - Características demográficas e clínicas dos pacientes avaliados

GÊNERO			
Masculino	8	(40%)	p<0,001‡
Feminino	12	(60%)	
ETNIA			
Caucasóide	18	(90%)	p<0,001‡
Não caucasóide	2	(10%)	
DOENÇA DE BASE			
Doença de Crohn	11	(55%)	p<0,001‡
Mieloma Múltiplo	3	(15%)	
Leucemia Mielóide Aguda	1	(5,0%)	
Leucemia Linfóide Aguda	1	(5,0%)	
Leucemia Mielóide Crônica	1	(5,0%)	
Linfoma Não Hodgkin	1	(5,0%)	
Linfoma Hodgkin/Crohn	1	(5,0%)	
Mieloma Osteoesclerótico	1	(5,0%)	
TIPO DE TCTH			
Autólogo	18	(90%)	p<0,001‡
Alogênico	2	(10%)	
RISCO (ÍNDICE ICO-TCTH)			
Baixo risco	14	(66,7%)	p<0,001‡
Médio risco	2	(22,2%)	
Alto risco	3	(11,1%)	

[‡] Teste Qui-Quadrado de Pearson

4.2. Resultados da detecção da melatonina salivar

Na busca por um biomarcador eficiente, foram avaliadas amostras de salivas dos pacientes para detecção dos níveis de melatonina buscando correlações com os scores do ICO-TCTH. Contudo, utilizando o método por HPLC, não foi possível identificar a presença desse hormônio em nenhuma das amostras avaliadas (Figura 2).

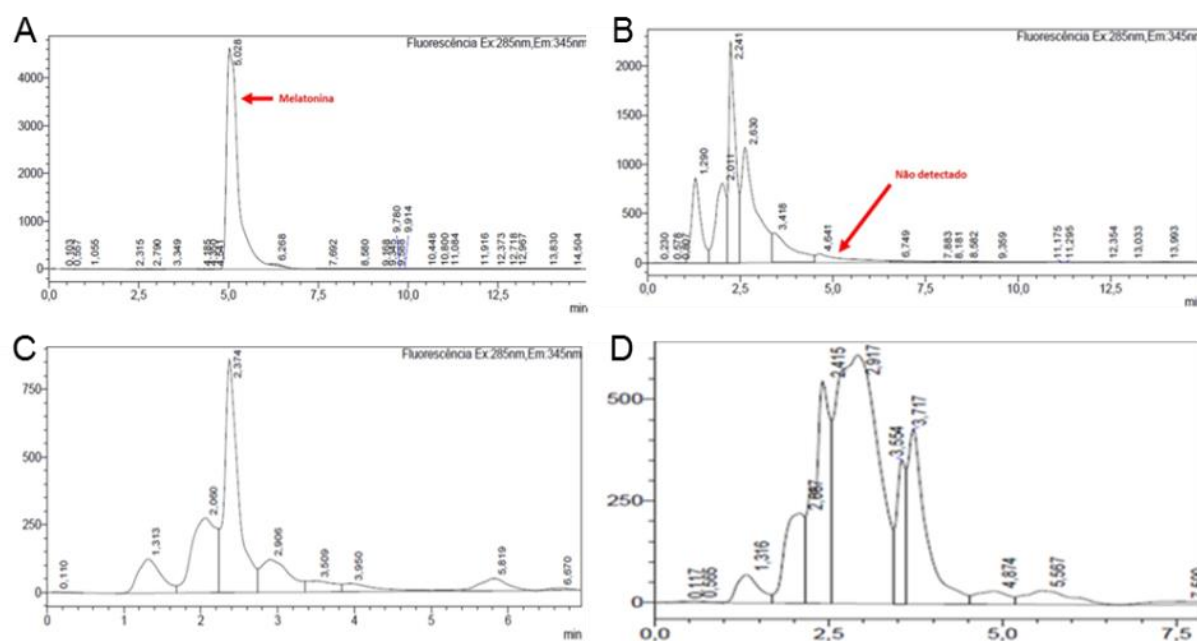


Figura 2. Método HPLC (High Performance Liquid Chromatography) para detecção de melatonina (MEL) na saliva. A e B) Seta vermelha indica o pico e a ausência da detecção, respectivamente. C e D) Representação dos resultados da detecção da melatonina na saliva do paciente e controle respectivamente.

Na impossibilidade de se mensurar a concentração de melatonina pelo método HPLC, o ensaio de Imunoabsorbância ELISA foi utilizado como alternativa. Os valores de concentração, agrupados pela condição pré e pós TCTH, risco de complicações orais (ICO) e doenças de base do paciente estão apresentados na figura 3.

Os valores observados variaram entre 8,44 e 78,09 ng/L. Os pacientes em estágio pré-TCTH apresentaram média de concentração maior que o verificado após o transplante de células tronco hematopoéticas (de $35,50 \pm 7,01$ para $21,90 \pm 2,528$; $p < 0,001$) (Figura 3A) e os menores valores de dosagem nesse estágio foram relacionados ao maior risco pela escala ICO-TCTH (média de $12,31 \pm 2,528$ entre os pacientes de risco médio e alto; $p < 0,001$) (Figura 3B). Pacientes com doenças de base onco-hematológicas apresentaram menores valores de concentração de melatonina e, para essas doenças, não foram observadas diferenças entre os estágios de coleta pré e após o transplante ($P > 0,05$) (Figura 3C).

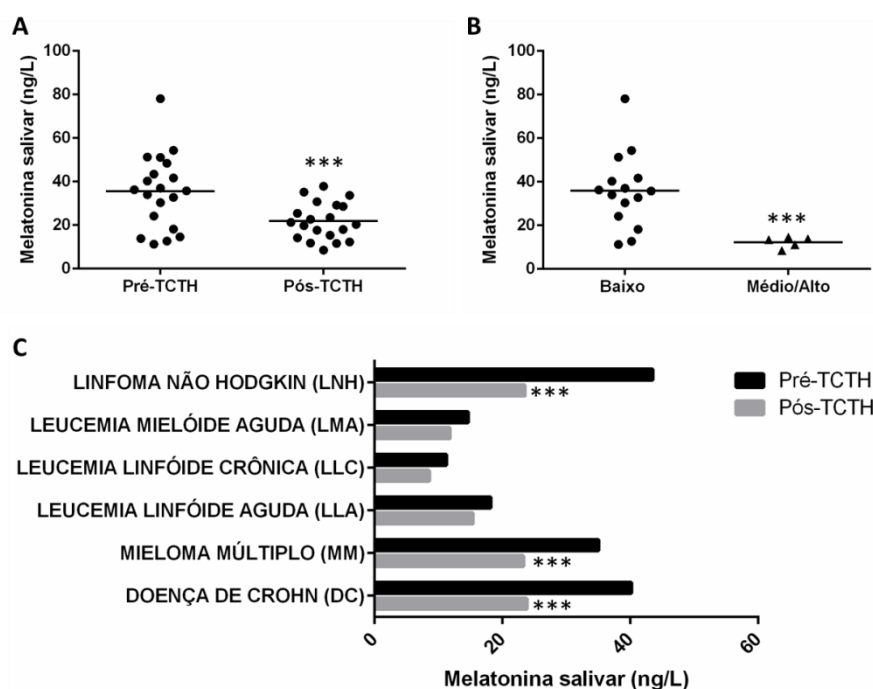


Figura 3. Ensaio imunoenzimático (ELISA) para determinação da concentração de melatonina (MEL) salivar. Os níveis de melatonina avaliados foram agrupados conforme o estágio do TCTH em que se realizou a amostragem (A), os grau definido pelos scores do ICO (B) e as doenças de base (C).*** $p < 0,001$.

5. *DISCUSSÃO*

O TCTH é um procedimento terapêutico que visa a recuperação do paciente, proporcionando a remissão da doença. Porém, o condicionamento com drogas quimioterápicas podem desenvolver diversas alterações orais e sistêmicas nesses pacientes imunossuprimidos. As complicações orais podem aumentar o tempo de internação hospitalar e os custos do tratamento, bem como afetar diretamente a qualidade e o tempo de vida desses pacientes (DA SILVA SANTOS et al., 2011; SCHUBERT; SULLIVAN, 1990). Por isso, identificar os fatores de risco de infecções orais e um biomarcador adequado são estratégias importantes para o sucesso desse procedimento.

Em nosso estudo, os graus das pontuações para as alterações orais foram dadas baseando-se em trabalhos que procuraram associar por meio de scores ou graus de intensidades quais alterações ou doenças orais associadas aos transplantes teriam, em tese, maiores potenciais de complicações clínicas. Essas observações mostram que a prevenção de doenças orais antes do TCTH, é extremamente importante, devendo ser realizada adequação bucal antes do transplante, ou seja, eliminar possíveis fatores de risco para infecções sistêmicas (DREIZEN et al., 1986; PICO; AVILA-GARAVITO; NACCACHE, 1998; SONIS, 2004).

Dreizen e colaboradores (1986) relataram que de 30% a 50% dos pacientes em tratamento quimioterápico para doenças oncológicas desenvolvem alterações ou lesões orais, que podem ter significativa redução por intervenção oral prévia.

As complicações em decorrência de infecções bucais podem ocorrer em qualquer fase do transplante e podem causar problemas significativos, como complicações sistêmicas, aumentando não apenas o custo do tratamento como a taxa de mortalidade (DA SILVA SANTOS et al., 2011; SCHUBERT; SULLIVAN, 1990). Os pacientes muitas vezes não sabem da real importância da manutenção da saúde bucal e que casos de infecção bucal podem comprometer o sucesso do TCTH por causa da translocação de microrganismos, portanto é essencial que se removam focos potenciais de infecções odontológicas ou infecções metastáticas originadas da cavidade bucal.

Dos 20 pacientes avaliados, 15% apresentaram alto risco odontológico, de acordo com o ICO-TCTH, índice proposto nesta pesquisa. As principais manifestações orais encontradas na DC foram o edema facial, gengival, edema nodular oral o qual apresenta um aspecto de “pedras de calçada”, estomatite aftosa, e glossite (LARANJEIRA et al., 2015). Os resultados ainda indicaram que a saúde bucal dos pacientes que apresentavam a DC encontrava-se com baixo índice de risco odontológico, que a mucosite muito comum de ocorrer nas fases de

imunossupressão expressa pela mobilização e condicionamento do TCTH, não foi detectada neste estudo até o momento, otimizando o TCTH, o qual pode ter seu sucesso comprometido pela presença de focos infecciosos não controlados. Dessa forma, tal índice pode ter grande valia para profissionais da área médica e odontológica na avaliação, no tratamento e no controle das condições bucais de pacientes submetidos ao TCTH.

A terapia com luz laser de baixa potência demonstrou ser eficaz por promover biomodulação do metabolismo celular, efeitos anti-inflamatórios e analgesia, sem efeitos mutagênicos e fototérmicos. A conversão da energia luminosa do laser em energia útil para as células, é capaz de estimular a produção de trifosfato de adenosina mitocondrial, proliferação celular e síntese proteica (OTON-LEITE et al., 2012).

A presente proposta ainda incluiu a pesquisa de melatonina na saliva dos pacientes a fim de verificar seu uso como biomarcador prognóstico do risco de complicações orais. Uma das principais vantagens de usar a saliva para exames é que sua coleta é fácil e não invasiva, eliminando a dor e desconforto de uma coleta sanguínea (LAWRENCE, 2002). A saliva vem sendo usada no diagnóstico e/ monitorização de infecções virais (BELZA et al., 2012; BOPPANA et al., 2011; MILLER et al., 2006) e bacterianas (LING et al., 2010). O estudo de infecções bacterianas na saliva vem sendo usado no diagnóstico das periodontites (KURATA et al., 2008); a concentração de creatinina salivar parece predizer as doenças renais (TOMÁS et al., 2008); vem sendo estudadas alterações salivares nos pacientes com carcinoma de cabeça e pescoço, principalmente o carcinoma escamoso oral (BERNABE et al., 2012), pâncreas (ZHANG et al., 2010a), pulmão (XIAO et al., 2012), próstata (SHIIKI et al., 2011), ovário (LEE et al., 2012) e mama (ZHANG et al., 2010b). Na psiquiatria, ela pode ser usada para monitorar a resposta ao tratamento em distúrbios da ansiedade, no diagnóstico de transtorno do estresse pós-traumático (APFEL et al., 2011) e depressão (BOCKTING et al., 2012).

Em sua capacidade antioxidante, a melatonina e seus metabólitos, também podem atuar por mecanismos independentes de seus receptores de membrana, exibindo propriedades anti-inflamatórias (TAHAN et al., 2011). É relatada como agente antiinflamatório, contribuindo para a eliminação de radicais livres e regulando a síntese da cicloxigenase 2 (COX-2). Isso porque a melatonina tem a estrutura semelhante a COX-2 e por isso pode se ligar ao seu sítio ativo, atuando como um inibidor natural das funções dessa enzima, modulando de maneira natural a sua atividade (DE LA ROCHA et al., 2007; MAYO et al., 2005).

A melatonina possui um caráter pleiotrópico auxiliando em várias funções fisiológicas simultaneamente, portanto a produção reduzida da MEL pode comprometer a homeostase (LI

et al., 2013), sugerindo seu uso como biomarcador prognóstico. Ela age como ativador ou inibidor de processos inflamatórios. Na fase aguda ela exerce um papel pró-inflamatório ativando mediadores como citocinas, fosfolipase e hipoxigenase. Na fase crônica apresenta um efeito contrário modulando negativamente e atuando como antioxidante. Atua suprimindo os processos inflamatórios mediados pelos linfócitos Th1, inibindo a maior sobrevivência das CD4 de memória (BARRETT et al., 2008; BROWN et al., 2015). A existência de receptores específicos para MEL em células linfóides confirma este efeito indireto na regulação e reforço da resposta imune (HARDELAND, 2009).

A modulação e respostas inflamatórias e imunológicas parece ser positiva ou negativa, dependendo das células, microambiente e mediadores envolvidos no processo. Além disso, estes efeitos podem ocorrer em concentrações compatíveis com o pico noturno de melatonina (CUZZOCREA; REITER, 2001). A reduzida qualidade do sono alteraria consideravelmente o ritmo e expressão da síntese de MEL (ARENDT, 2010). Distúrbios do sono e sofrimento emocional no curso do TCTH são frequentemente ignorados, causados pelo próprio confinamento, onde a mudança de rotina ocasionaria um Jet Lag social (JUDA; VETTER; ROENNEBERG, 2013).

Embora não tenha sido identificada melatonina nas amostras avaliadas pelo método HPLC, a busca que possibilite essa análise é amplamente apoiada na literatura. Alguns autores sugerem que os níveis de melatonina na saliva tem um papel protetor no tecido da cavidade oral contra os danos causados pelo estresse oxidativo (BLASIAK et al., 2011; GÓMEZ-MORENO et al., 2007). Outros propõem que há uma relação direta entre estes níveis de melatonina e saúde oral (ALMUGHRABI et al., 2013; SRINATH; ACHARYA; THAKUR, 2010). Levando em conta que MEL é um hormônio endógeno humano não tóxico; conclui-se ainda que a melatonina é um candidato potencial para o tratamento de doenças orais com poderoso papel antioxidante, anti-inflamatório, com atividades de imunopotenciação, e participa na proliferação e remodelação óssea, (NAKADE et al., 1999). Dessa forma, estudos evidenciam que esse hormônio tem um efeito benéfico em certas patologias orais incluindo infecção pelo vírus da herpes, cândida, xerostomia, úlceras orais e lesões pré-neoplásicas (GÓMEZ-MORENO et al., 2007).

A correlação entre concentração de MEL e efeito bioprotetor oral foi observado e diretamente proporcional ao resultado do ICO-TCTH, o que já era esperado. No entanto, a relação da concentração de MEL com o prognóstico do TCTH é discutível, pois poderia estar relacionada com as diferentes doenças de base e deficiências específicas como uma simples

depleção da albumina que por sua vez é a principal carreadora deste hormônio, assim como nefropatias e hepatotoxidades que dificultam o seu metabolismo e expressividade (CIPOLLANETO et al., 2014).

A análise dos resultados deste estudo revela que os pacientes apresentaram um perfil simétrico e com certa analogia no que concerne o risco de complicação oral, concentração de melatonina e segurança no TCTH.

6. CONCLUSÕES

6.1. Devido as suas peculiaridades, a presença da Odontologia é imprescindível ao paciente submetido ao TCTH, pois a cavidade oral representa um sítio propício para infecções. O acompanhamento odontológico destes pacientes, o uso da laserterapia condiciona maior índice de sucesso ao TCTH, principalmente quando associamos um possível biomarcador prognóstico. As manifestações orais ao precederem o aparecimento de uma doença de base, são passíveis de serem consideradas úteis no desenvolvimento de um diagnóstico diferencial e precoce em especial na Doença de Crohn que pode anteceder até sete anos a manifestação intestinal da doença.

6.2. A melatonina nos dá a possibilidade de referenciá-la neste cenário como um biomarcador prognóstico, já que os pacientes que possuem um baixo risco para complicações orais obtiveram uma maior expressividade deste hormônio.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMUGHHRABI, O. M. et al. Melatonin levels in periodontal health and disease. **Journal of Periodontal Research**, v. 48, n. 3, p. 315–321, 2013.
- ANISIMOV, V. N. et al. **Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen** *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 2006.
- APFEL, B. A. et al. Pretraumatic prolonged elevation of salivary MHPG predicts peritraumatic distress and symptoms of post-traumatic stress disorder. **Journal of Psychiatric Research**, v. 45, n. 6, p. 735–741, 2011.
- ARENDT, J. **Shift work: Coping with the biological clock** *Occupational Medicine*, 2010.
- BARNES, R. A; STALLARD, N. Severe infections after bone marrow transplantation. **Current opinion in critical care**, v. 7, n. 5, p. 362–6, 2001.
- BARRACH, R. H. et al. Oral changes in individuals undergoing hematopoietic stem cell transplantation. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 81, n. 2, p. 141–147, 2015.
- BARRETT, J. C. et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn’s disease. **Nature genetics**, v. 40, n. 8, p. 955–962, 2008.
- BELZA, M. J. et al. Supervised blood-based self-sample collection and rapid test performance: a valuable alternative to the use of saliva by HIV testing programmes with no medical or nursing staff. **Sex Transm Infect**, v. 88, n. 3, p. 218–221, 2012.
- BERNABE, D. G. et al. Increased plasma and salivary cortisol levels in patients with oral cancer and their association with clinical stage. **J Clin Pathol**, v. 65, n. 10, p. 934–939, 2012.
- BERTL, K. et al. Non-surgical periodontal therapy influences salivary melatonin levels. **Clinical Oral Investigations**, v. 17, n. 4, p. 1219–1225, 2013.
- BLASIAK, J. et al. **Perspectives on the use of melatonin to reduce cytotoxic and genotoxic effects of methacrylate-based dental materials** *Journal of Pineal Research*, 2011.
- BOCKTING, C. L. H. et al. Lower cortisol levels predict recurrence in remitted patients with recurrent depression: A 5.5 year prospective study. **Psychiatry Research**, v. 200, n. 2–3, p. 281–287, 2012.
- BOIRIVANT, M.; COSSU, A. **Inflammatory bowel disease** *Oral Diseases*, 2012.
- BOPPANA, S. B. et al. Saliva polymerase-chain-reaction assay for cytomegalovirus screening in newborns. **The New England journal of medicine**, v. 364, n. 22, p. 2111–8, 2011.
- BROWN, C. C. et al. Retinoic acid is essential for th1 cell lineage stability and prevents transition to a Th17 cell program. **Immunity**, v. 42, n. 3, p. 499–511, 2015.
- CENGIZ, M. I.; CENGIZ, S.; WANG, H. L. **Melatonin and oral cavity** *International Journal of Dentistry*, 2012.
- CHAVES, M. E. DE A. et al. **Effects of low-power light therapy on wound healing: LASER x LED** *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 2014.
- CHIAPPIN, S. et al. **Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation** *Clinica Chimica Acta*, 2007.
- CHOW, A. W. Infections of the Oral Cavity, Neck, and Head. In: **Mandell, Douglas, and**

- Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.** [s.l: s.n.]. v. 1p. 789–805.e2.
- CIPOLLA-NETO, J. et al. **Melatonin, energy metabolism, and obesity: A review***Journal of Pineal Research*, 2014.
- CLAUSTRAT, B.; BRUN, J.; CHAZOT, G. **The basic physiology and pathophysiology of melatonin***Sleep Medicine Reviews*, 2005.
- COPELAN, E. A. Hematopoietic stem-cell transplantation. *New England Journal of Medicine*, v. 354, n. 17, p. 1813–1826, 2006.
- CRAIG, R. M. et al. Hematopoietic stem cell transplantation for severe Crohn's disease. **Bone marrow transplantation**, v. 32 Suppl 1, p. S57–S59, 2003.
- CUZZOCREA, S.; REITER, R. J. **Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury***European Journal of Pharmacology*, 2001.
- DA SILVA SANTOS, P. S. et al. Impact of oral care prior to HSCT on the severity and clinical outcomes of oral mucositis. **Clinical Transplantation**, v. 25, n. 2, p. 325–328, 2011.
- DE LA ROCHA, N. et al. Structural basis of the anti-inflammatory activity of melatonin. *Arzneimittelforschung*, v. 57, n. 12, p. 782–786, 2007.
- DI BELLA, G. et al. **Melatonin anticancer effects: Review***International Journal of Molecular Sciences*, 2013.
- DOBR, T. et al. Oral health risks associated with HLA-types of patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. In: **Eur J Haematol.** [s.l: s.n.]. v. 78p. 495–499.
- DOMINGUEZ-RODRIGUEZ, A. Melatonin in cardiovascular disease. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 21, n. 11, p. 1593–1596, 2012.
- DREIZEN, S. et al. Quantitative analysis of the oral complications of antileukemia chemotherapy. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 62, n. 6, p. 650–653, 1986.
- DUBOCOVICH, M. L.; MARKOWSKA, M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine*, v. 27, n. 2, p. 101–110, 2005.
- ESPINO, J.; PARIENTE, J. A.; RODRÍGUEZ, A. B. **Oxidative stress and immunosenescence: Therapeutic effects of melatonin***Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012.
- FERREIRA, C. DA S. et al. Melatonin: cell death modulator. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 6, p. 715–718, 2010.
- FLYNN, T. R. **What are the Antibiotics of Choice for Odontogenic Infections, and How Long Should the Treatment Course Last?***Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 2011.
- GENDRON, R.; GRENIER, D.; MAHEU-ROBERT, L. F. **The oral cavity as a reservoir of bacterial pathogens for focal infections***Microbes and Infection*, 2000.
- GÓMEZ-MORENO, G. et al. Melatonin expression in periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, v. 42, n. 6, p. 536–540, 2007.
- GÓMEZ-MORENO, G. et al. **Melatonin in diseases of the oral cavity***Oral Diseases*, 2010.
- GÜRGAN, C. A. et al. Periodontal status and post-transplantation complications following

intensive periodontal treatment in patients underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation conditioned with myeloablative regimen. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 11, n. 2, p. 84–90, 2013.

HARDELAND, R. **Melatonin: Signaling mechanisms of a pleiotropic agent** *BioFactors*, 2009.

HEPWORTH, M. R. et al. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4⁺ T cells. **Science (New York, N.Y.)**, v. 348, n. 6238, p. 1031–1035, 2015.

HODGDON, A. **Dental and Related Infections** *Emergency Medicine Clinics of North America*, 2013.

JUDA, M.; VETTER, C.; ROENNEBERG, T. Chronotype modulates sleep duration, sleep quality, and social jet lag in shift-workers. **Journal of Biological Rhythms**, v. 28, n. 2, p. 141–151, 2013.

KASHIWAZAKI, H. et al. A comparison of oral mucositis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation between conventional and reduced-intensity regimens. **Support Care Cancer**, v. 20, n. 5, p. 933–939, 2012a.

KASHIWAZAKI, H. et al. A comparison of oral mucositis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation between conventional and reduced-intensity regimens. **Supportive Care in Cancer**, v. 20, n. 5, 2012b.

KASOW, K. A. et al. CD34⁺ Hematopoietic Progenitor Cell Selection of Bone Marrow Grafts for Autologous Transplantation in Pediatric Patients. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 13, n. 5, p. 608–614, 2007.

KURATA, H. et al. The prevalence of periodontopathogenic bacteria in saliva is linked to periodontal health status and oral malodour. **Journal of Medical Microbiology**, v. 57, n. 5, p. 636–642, 2008.

LALLA, R. V.; SONIS, S. T.; PETERSON, D. E. **Management of Oral Mucositis in Patients Who Have Cancer** *Dental Clinics of North America*, 2008.

LANKARANI, K. B.; SIVANDZADEH, G. R.; HASSANPOUR, S. **Oral manifestation in inflammatory bowel disease: A review** *World Journal of Gastroenterology*, 2013.

LARANJEIRA, N. et al. Oral mucosa lesions and oral symptoms in inflammatory bowel disease patients. **Arq Gastroenterol**, v. 52, n. 2, p. 105–110, 2015.

LAWRENCE, H. P. **Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health.** *Journal (Canadian Dental Association)*, 2002.

LEE, Y. H. et al. Salivary transcriptomic biomarkers for detection of ovarian cancer: for serous papillary adenocarcinoma. **Journal of Molecular Medicine**, v. 90, n. 4, p. 427–434, 2012.

LI, C. et al. A novel enzyme-dependent melatonin metabolite in humans. **Journal of Pineal Research**, v. 54, n. 1, p. 100–106, 2013.

LING, Z. et al. Analysis of Oral Microbiota in Children with Dental Caries by PCR-DGGE and Barcoded Pyrosequencing. **Microbial Ecology**, v. 60, n. 3, p. 677–690, 2010.

LIU, J.; DUAN, Y. **Saliva: A potential media for disease diagnostics and monitoring** *Oral Oncology*, 2012.

- LIU, J. Z.; ANDERSON, C. A. Genetic studies of Crohn's disease: Past, present and future. **Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology**, v. 28, n. 3, p. 373–386, 2014.
- MADANI, A. H. et al. Interaction of alcohol use and specific types of smoking on the development of oral cancer. **International journal of high risk behaviors & addiction**, v. 3, n. 1, p. e12120, 2014.
- MATHEW, G. C. et al. Odontogenic maxillofacial space infections at a tertiary care center in North India: A five-year retrospective study. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, 2012.
- MAYO, J. C. et al. Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. **Journal of Neuroimmunology**, v. 165, n. 1–2, p. 139–149, 2005.
- MENDELSON, J. **Personalizing oncology: perspectives and prospects. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, 2013.
- MILLER, C. S. et al. High prevalence of multiple human herpesviruses in saliva from human immunodeficiency virus-infected persons in the era of highly active antiretroviral therapy. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 7, p. 2409–2415, 2006.
- MONTASSIER, E. et al. 16S rRNA gene pyrosequencing reveals shift in patient faecal microbiota during high-dose chemotherapy as conditioning regimen for bone marrow transplantation. **Microbial ecology**, v. 67, n. 3, p. 690–699, 2014.
- MOSAAD, Y. M. **Hematopoietic stem cells: An overview Transfusion and Apheresis Science**, 2014.
- NAKADE, O. et al. Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro. **J.Pineal Res.**, v. 27, n. 2, p. 106–110, 1999.
- NEVILLE, B. W. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial**. [s.l.: s.n.].
- OTON-LEITE, A. F. et al. Effect of intraoral low-level laser therapy on quality of life of patients with head and neck cancer undergoing radiotherapy. **Head & neck**, v. 34, n. 3, p. 398–404, 2012.
- PADMAVATHI, B. et al. Oral Crohn's disease. **Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP**, v. 18, n. Suppl 1, p. S139–42, 2014.
- PALMASON, S.; MARTY, F. M.; TREISTER, N. S. **How Do We Manage Oral Infections in Allogeneic Stem Cell Transplantation and Other Severely Immunocompromised Patients? Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, 2011.
- PARULEKAR, W. et al. Scoring oral mucositis. **Oral Oncology**, v. 34, n. 1, p. 63–71, 1998.
- PICO, J.; AVILA-GARAVITO, A.; NACCACHE, P. Mucositis: Its Occurrence, Consequences, and Treatment in the Oncology Setting. **The oncologist**, v. 3, n. 6, p. 446–451, 1998.
- PRUNET-MARCASSUS, B. et al. Melatonin Reduces Body Weight Gain in Sprague Dawley Rats with Diet-Induced Obesity. **Endocrinology**, v. 144, n. 12, p. 5347–5352, 2003.
- PUPO, M. L. D. M. G. S. et al. Índice de risco odontológico para pacientes pré- transplante renal submetidos à hemodiálise. **Rev Sul-Bras Odontol.**, v. 7, p. 50–56, 2010.

- PUYAL CASADO, M. et al. Protocolo de estudio y tratamiento de la Mucositis bucal en los pacientes con hemopatías malignas. **Med Oral**, v. 8, n. 1, p. 10–18, 2003.
- RASTENIENĖ, R. et al. Odontogenic Maxillofacial Infections: A Ten-Year Retrospective Analysis. **Surgical infections**, v. 16, n. 3, p. 305–12, 2015.
- RAVINDRA, T.; LAKSHMI, N. K.; AHUJA, Y. R. Melatonin in pathogenesis and therapy of cancer. **Indian journal of medical sciences**, v. 60, n. 12, p. 523–35, 2006.
- RODRIGUEZ, C. et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. **Journal of Pineal Research**, v. 36, n. 1, p. 1–9, 2004a.
- RODRIGUEZ, C. et al. **Regulation of antioxidant enzymes: A significant role for melatonin** *Journal of Pineal Research*, 2004b.
- RÖMSING, S.; BÖKMAN, F.; BERGQVIST, Y. Determination of melatonin in saliva using automated solid-phase extraction, high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, v. 66, n. 3, p. 181–90, 2006.
- SÁNCHEZ-BARCELÓ, E. J. et al. Scientific basis for the potential use of melatonin in bone diseases: osteoporosis and adolescent idiopathic scoliosis. **Journal of osteoporosis**, v. 2010, p. 830231, 2010.
- SANTOS, P. S. D. S.; MAGALHÃES, M. H. C. G. DE. Avaliação da mucosite oral em pacientes que receberam adequação bucal prévia ao transplante de medula óssea. **RPG Rev Pós Grad**, v. 13, n. 1, p. 77–82, 2006.
- SATO, F. R. L. et al. Eight-Year Retrospective Study of Odontogenic Origin Infections in a Postgraduation Program on Oral and Maxillofacial Surgery. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 67, n. 5, p. 1092–1097, 2009.
- SCARDINA, G. A.; MESSINA, P. **Good oral health and diet** *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012.
- SCHUBERT, M. M.; SULLIVAN, K. M. Recognition, incidence, and management of oral graft-versus-host disease. **NCI monographs : a publication of the National Cancer Institute**, n. 9, p. 135–143, 1990.
- SCULLY, C. **Scully's Medical Problems in Dentistry**. [s.l: s.n.].
- SETHI, S.; MURPHY, T. F. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. **The New England journal of medicine**, v. 359, n. 22, p. 2355–65, 2008.
- SHEKLETON, J. A. et al. Sleep disturbance and melatonin levels following traumatic brain injury. **Neurology**, v. 74, n. 21, p. 1732–1738, 2010.
- SHIIKI, N. et al. Association between saliva PSA and serum PSA in conditions with prostate adenocarcinoma. **Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals**, v. 16, n. 6, p. 498–503, 2011.
- SLIWINSKI, T. et al. Protective action of melatonin against oxidative DNA damage-Chemical inactivation versus base-excision repair. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 634, n. 1–2, p. 220–227, 2007.
- SNOWDEN, J. A. et al. Haematopoietic SCT in severe autoimmune diseases: updated guidelines of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. **Bone Marrow**

Transplant, v. 47, n. 6, p. 770–790, 2012.

SONIS, S. T. **Pathobiology of mucositis***Seminars in Oncology Nursing*, 2004.

SONIS, S. T. **New thoughts on the initiation of mucositis***Oral Diseases*, 2010.

SRINATH, R.; ACHARYA, A. B.; THAKUR, S. L. Salivary and gingival crevicular fluid melatonin in periodontal health and disease. **Journal of periodontology**, v. 81, n. 2, p. 277–83, 2010.

SRINIVASAN, V. et al. **Melatonin, environmental light, and breast cancer***Breast Cancer Research and Treatment*, 2008.

STEVENS, R. G. et al. Breast Cancer and Circadian Disruption From Electric Lighting in the Modern World. **CA Cancer J Clin**, v. 64, n. 3, p. 207–218, 2014.

STRECKFUS, C. F. et al. Salivary protein profiles among her2/neu-receptor-positive and -negative breast cancer patients: Support for using salivary protein profiles for modeling breast cancer progression. **Journal of Oncology**, 2012.

SUEHARA, A. B. et al. Infecções cervicais profundas: Análise de 80 casos. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 74, n. 2, p. 253–259, 2008.

TAHAN, G. et al. Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 56, n. 3, p. 715–720, 2011.

THAPAN, K.; ARENDT, J.; SKENE, D. J. An action spectrum for melatonin suppression: Evidence for a novel non-rod, non-cone photoreceptor system in humans. **Journal of Physiology**, v. 535, n. 1, p. 261–267, 2001.

TOMÁS, I. et al. Changes in salivary composition in patients with renal failure. **Archives of Oral Biology**, v. 53, n. 6, p. 528–532, 2008.

TROELTZSCH, M. et al. Etiology and clinical characteristics of symptomatic unilateral maxillary sinusitis: A review of 174 cases. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 43, n. 8, p. 1522–1529, 2015.

TSAI, Y. C. et al. Effects of all-trans retinoic acid on Th1- and Th2-related chemokines production in monocytes. **Inflammation**, v. 31, n. 6, p. 428–433, 2008.

VANHOECKE, B. et al. **Microbiota and their role in the pathogenesis of oral mucositis***Oral Diseases*, 2015.

VELASCO M, I.; SOTO N, R. Principios para el tratamiento de infecciones odontogénicas con distintos niveles de complejidad. **Revista chilena de cirugía**, v. 64, n. 6, p. 586–598, 2012.

VENEGAS, C. et al. Extrapineal melatonin: Analysis of its subcellular distribution and daily fluctuations. **Journal of Pineal Research**, v. 52, n. 2, p. 217–227, 2012.

WATTERS, A. L.; EPSTEIN, J. B.; AGULNIK, M. **Oral complications of targeted cancer therapies: A narrative literature review***Oral Oncology*, 2011.

WOO, V. L. Oral Manifestations of Crohn's Disease: A Case Report and Review of the Literature. **Case Reports in Dentistry**, v. 2015, p. 830472, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Measuring Quality of Life: The World Health

Organization Quality of Life Instruments. **Psychol Med**, v. 28, n. 3, p. 551–558, 1998.

XIAO, H. et al. Proteomic analysis of human saliva from lung cancer patients using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. **Mol Cell Proteomics**, v. 11, n. 2, p. M111 012112, 2012.

ZEKONIS, G.; ZEKONIS, J. Effect of bacterial stimulants on release of reactive oxygen metabolites from peripheral blood neutrophils in periodontitis. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**, v. 40, n. 3, p. 260–4, 2004.

ZHANG, L. et al. Salivary Transcriptomic Biomarkers for Detection of Resectable Pancreatic Cancer. **Gastroenterology**, v. 138, n. 3, 2010a.

ZHANG, L. et al. Discovery and preclinical validation of salivary transcriptomic and proteomic biomarkers for the non- invasive detection of breast cancer. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12, 2010b.

ZHANG, Y.-Z.; LI, Y.-Y. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. **World journal of gastroenterology**, v. 20, n. 1, p. 91–9, 2014.

8. APÊNDICES

Apêndice 1 – Artigo abordando os resultados referentes aos pacientes com Doença de Crohn submetidos ao TCTH, submetido à revista *Clinical Oral Investigations* (I.F.: 2.02)

SALIVARY MELATONIN CORRELATES TO ORAL COMPLICATIONS RISKS IN CROHN'S DISEASE PATIENTS SUBMITTED TO HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Andréa Engracia Ruiz^{1,2}, Lucas Ribeiro Azevedo¹, Fernanda Gaspar do Amaral³, Milton Artur Ruiz¹⁻²

¹. Biology Department, IBILCE, São Paulo State University (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brazil.

². Department of Bone Marrow Transplantation, Associação Portuguesa de Beneficência Hospital, São Jose do Rio Preto, SP, Brazil.

³. Department of Physiology, Federal University of São Paulo, UNIFESP, São Paulo, SP, Brazil.

ABSTRACT

Crohn's disease (CD) is a chronic and multifactorial inflammatory gastrointestinal pathology and hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is an important therapeutic option. This procedure is characterized by the intravenous infusion of hematopoietic progenitor cells to restore the bone marrow and immunological function. Previously immunosuppression is required and promotes infectious complications, especially in the oral cavity, that causes systemic infections. Thus, the state of oral health directly interferes with the degree of morbidity and mortality of HSCT. Melatonin (MEL), a hormone of the pineal gland, is associated with the protection of the oral cavity against free radicals produced by inflammatory processes. The objective of this study was to evaluate the prevalence and risk factors of odontogenic infections by establishing an index of oral complications (ICO-HSCT) and its relation to the salivary melatonin concentration of patients with CD who underwent HSCT. The results suggest the possibility of using this hormone as a prognostic biomarker.

KEYWORDS: Crohn's disease, Hematopoietic stem cell transplantation, oral complications, melatonin

INTRODUCTION

Crohn's disease (CD) is a chronic inflammatory disease which affect diverse areas of the gastrointestinal tract from mouth to anus (BOIRIVANT; COSSU, 2012). Its etiology is a combination of genetic, environmental and immunological factors (BELZA et al., 2012; LIU; ANDERSON, 2014). Tissue damage is directed against endogenous bacteria that stimulate T cells to overproduce proinflammatory cytokines (LANKARANI; SIVANDZADEH; HASSANPOUR, 2013) (IL-12, TNF- α , IFN- γ) and results on the release of matrix-degrading enzymes causing ulcerations (ZHANG; LI, 2014).

Routine oral screenings allows the early diagnosis of CD, since oral manifestations may precede the gastrointestinal features in up to 30% of the cases (WOO, 2015). These manifestations include specific oral lesions (linear ulcers, polypoid lesions mucosal hyperplasia with the appearance of "cobblestones") and non-specific ones (such aphthas or lip and gingival edema) (PADMAVATHI et al., 2014).

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a very promising treatment for CD that reduces inflammation, alleviates symptoms and ensures remission (CRAIG et al., 2003). Autologous HSCT is a clinical procedure based on the mobilization of progenitor cells from the affected patient to be reinfused in themselves after their myelosuppression in order to reconstitute the medullary and immunological functions (KASOW et al., 2007). Chemotherapy regimen is set to inflicts minimal toxicity as possible, while sufficient to prepare the bone marrow space and to eliminate self-reactive T cells (SNOWDEN et al., 2012). However, immunosuppressed condition can reactivate latent infections (GÜRGAN et al., 2013; PALMASON; MARTY; TREISTER, 2011).

Complications due to opportunistic infections increase treatment costs and also the mortality rates (SONIS, 2010). In this scenario, the mouth acts as an important portal of entry for chronic systemic infections (MADANI et al., 2014). Several niches in the oral cavity allow the development of bacterial infections (CHOW, 2014). Namely, the root canal, the periodontal ligament and dental/mucosal lesions prompts the invasion of adjacent tissues (TROELTZSCH et al., 2015). The etiology of these infections is determined by the conjunction of microorganisms and dental biofilm that results in the rupture of the local immunological barriers, reaching the bloodstream and other target organs (HODGDON, 2013). Thus, biofilm removal, as well as routine oral screening, reduces the amount of microorganisms, mucositis intensity, fever episodes, influenza and pneumonia (KASHIWAZAKI et al., 2012a).

In addition, saliva is a key component of oral cavity health, protects the mucosa against mechanical damage and induce enamel remineralization (CHIAPPIN et al., 2007). The saliva constituents includes several proteins (LIU; DUAN, 2012) and hormones, such as melatonin (MEL) (RÖMSING; BÖKMAN; BERGQVIST, 2006). Most salivary MEL is produced by the pineal gland in rhythmic pattern, with secretory peak in the nocturnal period (ESPINO; PARIENTE; RODRÍGUEZ, 2012).

MEL is liposoluble and can directly cross any cell membrane to interact with intracellular proteins (RODRIGUEZ et al., 2004b). Its exhibits pleiotropic role in several physiological functions and, when reduced, compromises homeostasis (LI et al., 2013). Decreased expression of was found MEL in patients with periodontal disease (SRINATH; ACHARYA; THAKUR, 2010) and its enhanced levels correlates with the reduction of local inflammation levels (BERTL et al., 2013). This scenario suggests its use as a prognostic biomarker, capable of being associated with other important factors of oral health that, finally, are related to the risk of infections for the patient undergoing HSCT.

PATIENTS AND METHODS

Prospective clinical study of patients attended in Department of Bone Marrow Transplantation of the Associação Portuguesa de Beneficência Portuguesa Hospital in São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil. Twelve patients underwent HSCT in 2016 with Crohn's disease (CD) of both sexes (5 males and 7 females), mean age of 27 years, most caucasoids with an established medical indication for HSCT were evaluated. The autologous procedure is indicated in severe cases of active DC or refractory phase not controlled by immunosuppressors and nonresponsive to multiple treatments. The active DC must be mandatorily confirmed by morphological evaluation (endoscopy, CT scan and anatomopathological analysis). Standard protocols of evaluation, treatment and follow-up are approved by the research ethics committee of the Instituto de Moléstias Cardiovasculares (IMC) of São José do Rio Preto (Case FR-364139/2010). The evaluated patients also participate in the AutoCrohn Project (WCT 03000296).

The inclusion criteria considered for HSCT were: age between 14 and 70 years; Chronical Disease Activity Index (CDAI) ≥ 240 , Craig's Disease Severity Index (Craig CSI) above 16; Harvey & Bradshaw above 4; Platelet count above 100,000/ μ l and neutrophil count above 1500/ μ l.

Exclusion criteria applied were: reagent HIV 1 or 2; HCV reagent; positivity for Chagas disease; comorbidities such as cardiac, hepatic, renal, or non-CD related diseases; active infectious diseases; toxic megacolon; enterocutaneous fistula; obstructive bowel disease and intestinal perforation; uncontrolled diabetes mellitus or other uncontrolled disease; previous history of cancer treatment or malignancy; pregnancy or breastfeeding patient; psychiatric illness or disability that impairs the understanding of the treatment or signing of the free and informed consent term (TCLI); FEV1/FVC above 50% and CLCO above 50%; LVEF above 40%; bilirubins above 2.0 mg/dL, TGP 2x over the limit of normality; serum creatinine above 2.0 mg/dL.

The individual stomatognathic classification was established by the oral complications index (OCI-HSCT), according to the proposed dental standardization (PUPO et al., 2010). A brief description of the considered oral alterations is presented in Figure 1. Patients were classified according to the risk potential for each complication: low risk (up to 20 points), medium risk (21 to 45 points) and high risk (above 46 points). When necessary, lasertherapy (660 nm, 15 mW, 3.8 J / cm² for 10 seconds) was performed.

Saliva samples were collected around 3:30 AM and 4:00 AM and processed for the quantification of melatonin by ELISA enzyme immunoassay according to the kit manufacturer's instructions (Immunoassays for Saliva diagnostics, RE54041 Melatonin ELISA, IBL International, Tecan Group). Samples were collected before brushing teeth, with at least 30 minutes food or drink fasting, and without interference of any medication (oral, transdermal or injectable). Collections were not performed in case of oral lesions with active bleeding.

Homogenized samples (10% w/v) were centrifuged (4°C, 10,000 rpm, 15 min), the supernatant collected and stored at -70 ° C until dosing. The analyzes were performed according to the routine procedures of the laboratory of the Department of Physiology of UNIFESP-EPM, São Paulo, Brazil.

The comparison between the groups at each stage of evaluation was performed by paired T-test and the relationship with OCI-HSCT was verified by simple linear regression.

RESULTS

The clinical and sociodemographic data of the patients can be seen in Table 1. In summary, we evaluated patients of both sexes (4 males and 8 females), with a mean age of 27 years, and most of them caucasoids (75%). All patients were diagnosed with Crohn's disease (CD), received autologous transplants and there was no rejection of HSCT in any of the cases.

Some of the oral manifestations observed in the patients are illustrated in Figure 1. Sixty percent of the evaluated patients reported previous occurrence of oral manifestations of CD. However, the characteristic oral manifestations of CD were diagnosed in only two patients (16.6%), one specific (hyperplasia with the appearance of "cobblestones") and the other non-specific (aphthas) and the incidence of mucositis was null. Among the parameters considered for the determination of OCI-TCH, caries was found in eight patients (66.6%); Six patients (50%) presented the need to extract the smooth, orthodontic, or presence of focus; One of them (8.3%) presented fracture of the element 15 having to rehabilitate it with a fixed prosthesis. In this group we found a 3 mm periodontal disease in distal region of the tooth 47 in one patient. Another 16-year patient, the removal of suture in the BMT unit was required, since the exodontia of the element 36 had been performed prior to hospitalization due to presence of infectious focus. The OCI scores by the evaluation are presented in table 2.

Patient saliva samples were collected to measure melatonin levels seeking relations with OCI-HSCT scores. The observed melatonin values varied between 0.00 and 13.40 ng/L. In the pre-HSCT stage, patients presented a higher mean concentration than that observed after transplantation (from 7.19 ± 4.25 to 1.83 ± 2.43 , $p < 0.001$) (Table 3). OCI was found to be correlated to pre and post HSCT salivary melatonin levels ($\rho = -0.7641$, $p = 0.0052$ and $\rho = -0.9359$, $p = 0.0002$, respectively) (Table 4). Pre and post HSCT melatonin levels was also found correlated ($\rho = 0.7651$, $p = 0.0058$). None of the other evaluated factors presented a correlation with the salivary melatonin.

Others correlations found between patient's clinical parameters (Table 4) also include: gender and CDAI ($\rho = -0.4162$, $p = 0.0479$), age and CRP ($\rho = -0.6947$, $p = 0.0141$), HSS and $\beta 2$ -microglobulin ($\rho = 0.6431$, $p = 0.0272$), albumin and CDAI ($\rho = -0.6608$, $p = 0.0197$), albumin and $\beta 2$ -microglobulin ($\rho = -0.6042$, $p = 0.0336$). OCI score was found to be gender-related ($\rho = -0.4191$, $p = 0.0454$), since highest OCI scores was found in male patients.

DISCUSSION

The HSCT is a well-established therapeutic procedure to recover CD patients, providing the remission of the disease. However, associated immunosuppressive chemotherapy can lead to several infectious risks, mainly from non-treated oral focus to systemic bacterial invasion. Oral complications may increase the length of hospital stay and treatment costs, as well as directly affect these patients's life quality and expectancy (BARNES; STALLARD, 2001; DA SILVA

SANTOS et al., 2011). Therefore, identifying risk factors for oral infections and a respective adequate biomarker are important strategies for the success of this procedure.

In the present study, the main specific oral manifestations found in CD patients were gingival edema, aphthas, stomatitis and lingual mucosa hyperplasia with the appearance of "cobblestones" (LARANJEIRA et al., 2015). Mucositis was not detected in our patients, although represents one of the most frequent oral lesions related to immunosuppression (SONIS, 2010). All patients were classified as low risky condition according to the oral complications index (OCI-HSCT), proposed by us. Salivary MEL was found reduced at post-operative stage and the lowest values were found to the patients with higher OCI-HSCT evaluated previously.

Low level lasertherapy, applied as therapeutic procedure, has been shown to be effective in the biomodulation of cellular metabolism, regarding its anti-inflammatory effects and analgesia, without mutagenic and photothermal effects (CHAVES et al., 2014). The conversion of laser light energy into energy useful for the cells is able to stimulate the production of mitochondrial adenosine triphosphate, cell proliferation and protein synthesis (OTON-LEITE et al., 2012).

The study of salivary components and its influence in the bacterial and viral infections has been largely used in the diagnosis of periodontitis (BELZA et al., 2012; BOPPANA et al., 2011; KURATA et al., 2008; MILLER et al., 2006). Saliva sampling is an easy and non-invasive method, and in adequated situations, can minimize the number of blood collection, relieving the pain and discomfort associated to this procedure (LAWRENCE, 2002). The salivary creatinine concentration was already employed to predict risky of renal diseases (TOMÁS et al., 2008; ZHANG et al., 2010a), lung (XIAO et al., 2012), prostate cancer (ZHANG et al., 2010a), and oral squamous cell carcinoma (BERNABE et al., 2012).

Some authors suggest that MEL levels in saliva have a protective role against the damage caused by oxidative stress in oral cavity (BLASIAK et al., 2011; CENGIZ; CENGIZ; WANG, 2012; GÓMEZ-MORENO et al., 2010). MEL and its metabolites may also act by mechanisms independent of their membrane receptors, exhibiting anti-inflammatory properties (TAHAN et al., 2011), contributing to the neutralization of free radicals and the synthesis of cyclooxygenase 2 (COX-2). This is because MEL structure is similar to COX-2 and binds to its active site, acting as a natural inhibitor of the functions of this enzyme (DE LA ROCHA et al., 2007; RODRIGUEZ et al., 2004b).

MEL can suppress the inflammatory processes mediated by Th1 lymphocytes, inhibiting the greater survival of memory CD4 (DA SILVA SANTOS et al., 2011; TSAI et al., 2008). The presence of specific receptors for MEL in lymphoid cells confirms this indirect effect on the regulation and enhancement of the immune response (HEPWORTH et al., 2015). In this way, a clear relationship between MEL levels and oral health was been proposed (ALMUGHRAFI et al., 2013; GÓMEZ-MORENO et al., 2010; SRINATH; ACHARYA; THAKUR, 2010). Thus, some studies have shown that this hormone has a beneficial effect on certain oral pathologies including herpes virus, candida, candida, xerostomia, oral ulcers and pre-neoplastic lesions (CENGIZ; CENGIZ; WANG, 2012). Taking into account that MEL is a nontoxic human endogenous hormone; It is suggested that melatonin is a potential candidate for the treatment of oral diseases with a powerful anti-inflammatory, anti-inflammatory role with

immunopotential activities, participating in bone proliferation and remodeling (NAKADE et al., 1999).

We found significant differences in the MEL levels in patients before and after HSCT. In addition, patients at higher risk according to OCI-HSCT had the lower salivary levels of pre-HSCT melatonin. The reduced quality of sleep would considerably alter the rhythm and expression of MEL synthesis (ARENDT, 2010; SHEKLETON et al., 2010). Sleep disturbances and emotional distress in the course of HSCT are often ignored, caused by the confinement itself, where routine change would cause a social Jet Lag (JUDA; VETTER; ROENNEBERG, 2013). Therefore, the modulation of inflammatory and immunological responses by MEL appears to be positive or negative depending on the cells, microenvironment and mediators involved in the process. In addition, these effects seem to occur at concentrations compatible with melatonin nocturnal peak (CUZZOCREA; REITER, 2001) when the saliva sampling was performed.

The correlation between MEL concentration and oral bioprotective effect was observed and proportional to the OCI-HSCT scores. However, the relationship of MEL with the prognosis of HSCT is under discussion, since it could be related to the specific deficiencies as a simple depletion of albumin, which in turn is the main carrier of this hormone, hindering its metabolism and expressiveness (CIPOLLA-NETO et al., 2014). Despite this, OCI-HSCT index and/or MEL measuring may have great value to medical and dental professionals in the evaluation, treatment and control of oral conditions in patients submitted to HSCT.

CONCLUSIONS

Dentistry can heavily contribute to the systematized assistance to the patient submitted to HSCT, since the oral cavity represents a very important for infectious focus. The dental follow-up of these patients conditions a higher success rate for HSCT. The oral manifestations preceding the onset of a baseline disease may be considered useful in the development of a differential and early diagnosis especially in CD. MEL measurement, by its correlation to OCI-HSCT, can be useful as a prognostic biomarker, considering the expression patterns observed in the present study.

ACKNOWLEDGMENTS

We are very grateful to the entire team of professionals of the Department of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapy of the Associação Portuguesa de Beneficência Hospital at São José do Rio Preto, SP – Brazil for support this work.

REFERENCES

- ALMUGHRABI, O. M. et al. Melatonin levels in periodontal health and disease. **Journal of Periodontal Research**, v. 48, n. 3, p. 315–321, 2013.
- ANISIMOV, V. N. et al. **Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen** *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 2006.

- APFEL, B. A. et al. Pretraumatic prolonged elevation of salivary MHPG predicts peritraumatic distress and symptoms of post-traumatic stress disorder. **Journal of Psychiatric Research**, v. 45, n. 6, p. 735–741, 2011.
- ARENDT, J. **Shift work: Coping with the biological clock** *Occupational Medicine*, 2010.
- BARNES, R. A; STALLARD, N. Severe infections after bone marrow transplantation. **Current opinion in critical care**, v. 7, n. 5, p. 362–6, 2001.
- BARRACH, R. H. et al. Oral changes in individuals undergoing hematopoietic stem cell transplantation. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 81, n. 2, p. 141–147, 2015.
- BARRETT, J. C. et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. **Nature genetics**, v. 40, n. 8, p. 955–962, 2008.
- BELZA, M. J. et al. Supervised blood-based self-sample collection and rapid test performance: a valuable alternative to the use of saliva by HIV testing programmes with no medical or nursing staff. **Sex Transm Infect**, v. 88, n. 3, p. 218–221, 2012.
- BERNABE, D. G. et al. Increased plasma and salivary cortisol levels in patients with oral cancer and their association with clinical stage. **J Clin Pathol**, v. 65, n. 10, p. 934–939, 2012.
- BERTL, K. et al. Non-surgical periodontal therapy influences salivary melatonin levels. **Clinical Oral Investigations**, v. 17, n. 4, p. 1219–1225, 2013.
- BLASIAK, J. et al. **Perspectives on the use of melatonin to reduce cytotoxic and genotoxic effects of methacrylate-based dental materials** *Journal of Pineal Research*, 2011.
- BOCKTING, C. L. H. et al. Lower cortisol levels predict recurrence in remitted patients with recurrent depression: A 5.5 year prospective study. **Psychiatry Research**, v. 200, n. 2–3, p. 281–287, 2012.
- BOIRIVANT, M.; COSSU, A. **Inflammatory bowel disease** *Oral Diseases*, 2012.
- BOPPANA, S. B. et al. Saliva polymerase-chain-reaction assay for cytomegalovirus screening in newborns. **The New England journal of medicine**, v. 364, n. 22, p. 2111–8, 2011.
- BROWN, C. C. et al. Retinoic acid is essential for th1 cell lineage stability and prevents transition to a Th17 cell program. **Immunity**, v. 42, n. 3, p. 499–511, 2015.
- CENGİZ, M. I.; CENGİZ, S.; WANG, H. L. **Melatonin and oral cavity** *International Journal of Dentistry*, 2012.
- CHAVES, M. E. DE A. et al. **Effects of low-power light therapy on wound healing: LASER x LED** *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 2014.
- CHIAPPIN, S. et al. **Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation** *Clinica Chimica Acta*, 2007.
- CHOW, A. W. Infections of the Oral Cavity, Neck, and Head. In: **Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases**. [s.l: s.n.]. v. 1p. 789–805.e2.
- CIPOLLA-NETO, J. et al. **Melatonin, energy metabolism, and obesity: A review** *Journal of Pineal Research*, 2014.
- CLAUSTRAT, B.; BRUN, J.; CHAZOT, G. **The basic physiology and pathophysiology of melatonin** *Sleep Medicine Reviews*, 2005.
- COPELAN, E. A. Hematopoietic stem-cell transplantation. **New England Journal of Medicine**, v. 354, n. 17, p. 1813–1826, 2006.
- CRAIG, R. M. et al. Hematopoietic stem cell transplantation for severe Crohn's disease. **Bone marrow transplantation**, v. 32 Suppl 1, p. S57–S59, 2003.
- CUZZOCREA, S.; REITER, R. J. **Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury** *European Journal of Pharmacology*, 2001.
- DA SILVA SANTOS, P. S. et al. Impact of oral care prior to HSCT on the severity and clinical outcomes of oral mucositis. **Clinical Transplantation**, v. 25, n. 2, p. 325–328, 2011.
- DE LA ROCHA, N. et al. Structural basis of the anti-inflammatory activity of melatonin. **Arzneimittelforschung**, v. 57, n. 12, p. 782–786, 2007.
- DI BELLA, G. et al. **Melatonin anticancer effects: Review** *International Journal of Molecular Sciences*, 2013.
- DOBR, T. et al. Oral health risks associated with HLA-types of patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. In: **Eur J Haematol**. [s.l: s.n.]. v. 78p. 495–499.
- DOMINGUEZ-RODRIGUEZ, A. Melatonin in cardiovascular disease. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 21, n. 11, p. 1593–1596, 2012.

- DREIZEN, S. et al. Quantitative analysis of the oral complications of antileukemia chemotherapy. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 62, n. 6, p. 650–653, 1986.
- DUBOCOVICH, M. L.; MARKOWSKA, M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. **Endocrine**, v. 27, n. 2, p. 101–110, 2005.
- ESPINO, J.; PARIENTE, J. A.; RODRÍGUEZ, A. B. **Oxidative stress and immunosenescence: Therapeutic effects of melatonin***Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012.
- FERREIRA, C. DA S. et al. Melatonin: cell death modulator. **Revista da Associacao Medica Brasileira**, v. 56, n. 6, p. 715–718, 2010.
- FLYNN, T. R. **What are the Antibiotics of Choice for Odontogenic Infections, and How Long Should the Treatment Course Last?***Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 2011.
- GENDRON, R.; GRENIER, D.; MAHEU-ROBERT, L. F. **The oral cavity as a reservoir of bacterial pathogens for focal infections***Microbes and Infection*, 2000.
- GÓMEZ-MORENO, G. et al. Melatonin expression in periodontal disease. **Journal of Periodontal Research**, v. 42, n. 6, p. 536–540, 2007.
- GÓMEZ-MORENO, G. et al. **Melatonin in diseases of the oral cavity***Oral Diseases*, 2010.
- GÜRGAN, C. A. et al. Periodontal status and post-transplantation complications following intensive periodontal treatment in patients underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation conditioned with myeloablative regimen. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 11, n. 2, p. 84–90, 2013.
- HARDELAND, R. **Melatonin: Signaling mechanisms of a pleiotropic agent***BioFactors*, 2009.
- HEPWORTH, M. R. et al. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4⁺ T cells. **Science (New York, N.Y.)**, v. 348, n. 6238, p. 1031–1035, 2015.
- HODGDON, A. **Dental and Related Infections***Emergency Medicine Clinics of North America*, 2013.
- JUDA, M.; VETTER, C.; ROENNEBERG, T. Chronotype modulates sleep duration, sleep quality, and social jet lag in shift-workers. **Journal of Biological Rhythms**, v. 28, n. 2, p. 141–151, 2013.
- KASHIWAZAKI, H. et al. A comparison of oral mucositis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation between conventional and reduced-intensity regimens. **Support Care Cancer**, v. 20, n. 5, p. 933–939, 2012a.
- KASHIWAZAKI, H. et al. A comparison of oral mucositis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation between conventional and reduced-intensity regimens. **Supportive Care in Cancer**, v. 20, n. 5, 2012b.
- KASOW, K. A. et al. CD34⁺ Hematopoietic Progenitor Cell Selection of Bone Marrow Grafts for Autologous Transplantation in Pediatric Patients. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v. 13, n. 5, p. 608–614, 2007.
- KURATA, H. et al. The prevalence of periodontopathogenic bacteria in saliva is linked to periodontal health status and oral malodour. **Journal of Medical Microbiology**, v. 57, n. 5, p. 636–642, 2008.
- LALLA, R. V.; SONIS, S. T.; PETERSON, D. E. **Management of Oral Mucositis in Patients Who Have Cancer***Dental Clinics of North America*, 2008.
- LANKARANI, K. B.; SIVANDZADEH, G. R.; HASSANPOUR, S. **Oral manifestation in inflammatory bowel disease: A review***World Journal of Gastroenterology*, 2013.
- LARANJEIRA, N. et al. Oral mucosa lesions and oral symptoms in inflammatory bowel disease patients. **Arg Gastroenterol**, v. 52, n. 2, p. 105–110, 2015.
- LAWRENCE, H. P. **Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health.***Journal (Canadian Dental Association)*, 2002.
- LEE, Y. H. et al. Salivary transcriptomic biomarkers for detection of ovarian cancer: for serous papillary adenocarcinoma. **Journal of Molecular Medicine**, v. 90, n. 4, p. 427–434, 2012.
- LI, C. et al. A novel enzyme-dependent melatonin metabolite in humans. **Journal of Pineal Research**, v. 54, n. 1, p. 100–106, 2013.
- LING, Z. et al. Analysis of Oral Microbiota in Children with Dental Caries by PCR-DGGE and Barcoded Pyrosequencing. **Microbial Ecology**, v. 60, n. 3, p. 677–690, 2010.
- LIU, J.; DUAN, Y. **Saliva: A potential media for disease diagnostics and monitoring***Oral Oncology*, 2012.
- LIU, J. Z.; ANDERSON, C. A. Genetic studies of Crohn's disease: Past, present and future. **Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology**, v. 28, n. 3, p. 373–386, 2014.
- MADANI, A. H. et al. Interaction of alcohol use and specific types of smoking on the development of oral cancer. **International journal of high risk behaviors & addiction**, v. 3, n. 1, p. e12120, 2014.

- MATHEW, G. C. et al. Odontogenic maxillofacial space infections at a tertiary care center in North India: A five-year retrospective study. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, 2012.
- MAYO, J. C. et al. Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. **Journal of Neuroimmunology**, v. 165, n. 1–2, p. 139–149, 2005.
- MENDELSON, J. **Personalizing oncology: perspectives and prospects**. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, 2013.
- MILLER, C. S. et al. High prevalence of multiple human herpesviruses in saliva from human immunodeficiency virus-infected persons in the era of highly active antiretroviral therapy. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 7, p. 2409–2415, 2006.
- MONTASSIER, E. et al. 16S rRNA gene pyrosequencing reveals shift in patient faecal microbiota during high-dose chemotherapy as conditioning regimen for bone marrow transplantation. **Microbial ecology**, v. 67, n. 3, p. 690–699, 2014.
- MOSAAD, Y. M. **Hematopoietic stem cells: An overview**. **Transfusion and Apheresis Science**, 2014.
- NAKADE, O. et al. Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro. **J. Pineal Res.**, v. 27, n. 2, p. 106–110, 1999.
- NEVILLE, B. W. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial**. [s.l.: s.n.].
- OTON-LEITE, A. F. et al. Effect of intraoral low-level laser therapy on quality of life of patients with head and neck cancer undergoing radiotherapy. **Head & neck**, v. 34, n. 3, p. 398–404, 2012.
- PADMAVATHI, B. et al. Oral Crohn's disease. **Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP**, v. 18, n. Suppl 1, p. S139–42, 2014.
- PALMASON, S.; MARTY, F. M.; TREISTER, N. S. **How Do We Manage Oral Infections in Allogeneic Stem Cell Transplantation and Other Severely Immunocompromised Patients?** **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, 2011.
- PARULEKAR, W. et al. Scoring oral mucositis. **Oral Oncology**, v. 34, n. 1, p. 63–71, 1998.
- PICO, J.; AVILA-GARAVITO, A.; NACCACHE, P. Mucositis: Its Occurrence, Consequences, and Treatment in the Oncology Setting. **The oncologist**, v. 3, n. 6, p. 446–451, 1998.
- PRUNET-MARCASSUS, B. et al. Melatonin Reduces Body Weight Gain in Sprague Dawley Rats with Diet-Induced Obesity. **Endocrinology**, v. 144, n. 12, p. 5347–5352, 2003.
- PUPPO, M. L. D. M. G. S. et al. Índice de risco odontológico para pacientes pré- transplante renal submetidos à hemodiálise. **Rev Sul-Bras Odontol.**, v. 7, p. 50–56, 2010.
- PUYAL CASADO, M. et al. Protocolo de estudio y tratamiento de la Mucositis bucal en los pacientes con hemopatías malignas. **Med Oral**, v. 8, n. 1, p. 10–18, 2003.
- RASTENIENĖ, R. et al. Odontogenic Maxillofacial Infections: A Ten-Year Retrospective Analysis. **Surgical infections**, v. 16, n. 3, p. 305–12, 2015.
- RAVINDRA, T.; LAKSHMI, N. K.; AHUJA, Y. R. Melatonin in pathogenesis and therapy of cancer. **Indian journal of medical sciences**, v. 60, n. 12, p. 523–35, 2006.
- RODRIGUEZ, C. et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. **Journal of Pineal Research**, v. 36, n. 1, p. 1–9, 2004a.
- RODRIGUEZ, C. et al. **Regulation of antioxidant enzymes: A significant role for melatonin**. **Journal of Pineal Research**, 2004b.
- RÖMSING, S.; BÖKMAN, F.; BERGQVIST, Y. Determination of melatonin in saliva using automated solid-phase extraction, high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, v. 66, n. 3, p. 181–90, 2006.
- SÁNCHEZ-BARCELÓ, E. J. et al. Scientific basis for the potential use of melatonin in bone diseases: osteoporosis and adolescent idiopathic scoliosis. **Journal of osteoporosis**, v. 2010, p. 830231, 2010.
- SANTOS, P. S. D. S.; MAGALHÃES, M. H. C. G. DE. Avaliação da mucosite oral em pacientes que receberam adequação bucal prévia ao transplante de medula óssea. **RPG Rev Pós Grad**, v. 13, n. 1, p. 77–82, 2006.
- SATO, F. R. L. et al. Eight-Year Retrospective Study of Odontogenic Origin Infections in a Postgraduation Program on Oral and Maxillofacial Surgery. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 67, n. 5, p. 1092–1097, 2009.
- SCARDINA, G. A.; MESSINA, P. **Good oral health and diet**. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**,

2012.

SCHUBERT, M. M.; SULLIVAN, K. M. Recognition, incidence, and management of oral graft-versus-host disease. **NCI monographs : a publication of the National Cancer Institute**, n. 9, p. 135–143, 1990.

SCULLY, C. **Scully's Medical Problems in Dentistry**. [s.l.: s.n.].

SETHI, S.; MURPHY, T. F. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. **The New England journal of medicine**, v. 359, n. 22, p. 2355–65, 2008.

SHEKLETON, J. A. et al. Sleep disturbance and melatonin levels following traumatic brain injury. **Neurology**, v. 74, n. 21, p. 1732–1738, 2010.

SHIHKI, N. et al. Association between saliva PSA and serum PSA in conditions with prostate adenocarcinoma. **Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals**, v. 16, n. 6, p. 498–503, 2011.

SLIWINSKI, T. et al. Protective action of melatonin against oxidative DNA damage-Chemical inactivation versus base-excision repair. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 634, n. 1–2, p. 220–227, 2007.

SNOWDEN, J. A. et al. Haematopoietic SCT in severe autoimmune diseases: updated guidelines of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. **Bone Marrow Transplant**, v. 47, n. 6, p. 770–790, 2012.

SONIS, S. T. **Pathobiology of mucositis** *Seminars in Oncology Nursing*, 2004.

SONIS, S. T. **New thoughts on the initiation of mucositis** *Oral Diseases*, 2010.

SRINATH, R.; ACHARYA, A. B.; THAKUR, S. L. Salivary and gingival crevicular fluid melatonin in periodontal health and disease. **Journal of periodontology**, v. 81, n. 2, p. 277–83, 2010.

SRINIVASAN, V. et al. **Melatonin, environmental light, and breast cancer** *Breast Cancer Research and Treatment*, 2008.

STEVENS, R. G. et al. Breast Cancer and Circadian Disruption From Electric Lighting in the Modern World. **CA Cancer J Clin**, v. 64, n. 3, p. 207–218, 2014.

STRECKFUS, C. F. et al. Salivary protein profiles among her2/neu-receptor-positive and -negative breast cancer patients: Support for using salivary protein profiles for modeling breast cancer progression. **Journal of Oncology**, 2012.

SUEHARA, A. B. et al. Infecções cervicais profundas: Análise de 80 casos. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 74, n. 2, p. 253–259, 2008.

TAHAN, G. et al. Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 56, n. 3, p. 715–720, 2011.

THAPAN, K.; ARENDT, J.; SKENE, D. J. An action spectrum for melatonin suppression: Evidence for a novel non-rod, non-cone photoreceptor system in humans. **Journal of Physiology**, v. 535, n. 1, p. 261–267, 2001.

TOMÁS, I. et al. Changes in salivary composition in patients with renal failure. **Archives of Oral Biology**, v. 53, n. 6, p. 528–532, 2008.

TROELTZSCH, M. et al. Etiology and clinical characteristics of symptomatic unilateral maxillary sinusitis: A review of 174 cases. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 43, n. 8, p. 1522–1529, 2015.

TSAI, Y. C. et al. Effects of all-trans retinoic acid on Th1- and Th2-related chemokines production in monocytes. **Inflammation**, v. 31, n. 6, p. 428–433, 2008.

VANHOECKE, B. et al. **Microbiota and their role in the pathogenesis of oral mucositis** *Oral Diseases*, 2015.

VELASCO M, I.; SOTO N, R. Principios para el tratamiento de infecciones odontogénicas con distintos niveles de complejidad. **Revista chilena de cirugía**, v. 64, n. 6, p. 586–598, 2012.

VENEGAS, C. et al. Extrapineal melatonin: Analysis of its subcellular distribution and daily fluctuations. **Journal of Pineal Research**, v. 52, n. 2, p. 217–227, 2012.

WATTERS, A. L.; EPSTEIN, J. B.; AGULNIK, M. **Oral complications of targeted cancer therapies: A narrative literature review** *Oral Oncology*, 2011.

WOO, V. L. Oral Manifestations of Crohn's Disease: A Case Report and Review of the Literature. **Case Reports in Dentistry**, v. 2015, p. 830472, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Measuring Quality of Life: The World Health Organization Quality of Life Instruments. **Psychol Med**, v. 28, n. 3, p. 551–558, 1998.

XIAO, H. et al. Proteomic analysis of human saliva from lung cancer patients using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. **Mol Cell Proteomics**, v. 11, n. 2, p. M111 012112, 2012.

ZEKONIS, G.; ZEKONIS, J. Effect of bacterial stimulants on release of reactive oxygen metabolites from peripheral blood neutrophils in periodontitis. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**, v. 40, n. 3, p. 260–4, 2004.

ZHANG, L. et al. Salivary Transcriptomic Biomarkers for Detection of Resectable Pancreatic Cancer. **Gastroenterology**, v. 138, n. 3, 2010a.

ZHANG, L. et al. Discovery and preclinical validation of salivary transcriptomic and proteomic biomarkers for the non- invasive detection of breast cancer. **PLoS ONE**, v. 5, n. 12, 2010b.

ZHANG, Y.-Z.; LI, Y.-Y. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. **World journal of gastroenterology**, v. 20, n. 1, p. 91–9, 2014.

Figures and Tables

ORAL COMPLICATION	MAX SCORE
Caries	15
Fracture	05
Periodontal disease - per teeth	15
Dental mobility - per teeth	10
Exodontia - per teeth	05
Prostheses	10
Orthodontic appliances	05
Oral disease manifestations	05
Mucosites – WHO classification	15
Infections	15
TOTAL	100

Adapted from [27]

FIGURE 1 – Oral complications Index to Hematopoietic Stem Cells transplant (OCI-HSCT). Standardized scores related to oral cavity complications during HSCT procedure.

Table 1 – Patient’s sociodemographic and clinical parameters

#	GENDE R	AGE	ETHNI C	CDAI	CRP (<0.50 mg/dL)	HSS (0 - 15MM)	β2M (< 2.7 mcg/mL)	F CALP (< 200 mcg/g)	ALB (3.5 - 5.2 g/dL)
1	F	47	C	184	0.10	25	2.0	765	4.3
2	F	21	N-C	461	2.13	30	2.4	1800	2.5
3	F	33	C	205.6	0.39	18	2.0		3.3
4	M	32	C	249	0.15	4	1.9	8	3.2
5	F	16	C	283.9	9.64	62	2.4		3.3
6	F	27	C	241.5	0.20	26	1.3	1800	3.8
7	F	23	N-C	247	2.52	60	2.1	1800	3.5
8	M	22	N-C	410	0.46	10	1.6	1118	3.8
9	M	16	C	214	1.5	9	1.45	441	3.8
10	M	32	C	384	0.48	6	2.0	1800	2.7
11	F	20	C	238	4.7	9	1.7	339	4.4
12	M	25	C	482.8	12.46	100	2.5		3.2
Mean (SD)		26,17 (8,79)		300,07 (104,96)	2,89 (4,09)	29,92 (29,45)	1,95 (0,38)	1096,78 (731,29)	3,57 (0,51)
Median		24		248	0,99	21,5	2	1118	3,5

CDAI: Clinical Disease Activity Index, CRP: C-Reactive Protein, HSS: Haematological Scoring System, β2M: β2-Microglobulin, CALP: Fecal Calprotectin, ALB: Albumin, F: Female, M – Male, C: Caucasoid, N-C: Non-caucasoid.

Table 2 – Patient’s OCI-HSCT scores and complications and risky grade

#	TOTAL OCI SCORE	INDIVIDUAL ORAL COMPLICATIONS	OCI GRADE
1	10	OM+C1	LOW
2	8	EXWTF	LOW
3	2	EXWTO	LOW
4	13	EXWTF+C1	LOW
5	5	OM	LOW
6	10	C1+EXWTO+EXWTF	LOW
7	2	EXWTO	LOW
8	15	P1+C2	LOW
9	7	EXOF+C1	LOW
10	5	C1	LOW
11	13	EXWTF+C1	LOW
12	14	FRAT+FPOT+C1	LOW

OM: Oral Manifestation, MU: Mucositis, A: Absent by extraction, FPOI: Fixed Prosthesis on Implant, FPOT: Fixed Prosthesis on Tooth, RPPC: Removable Partial Prosthesis with Clip, PCR: Protocol, FRAT: Fracture, IF: Infectious Focus, C1: Dental Caries (1 to 5 teeth), C2: Dental Caries (6 to 10 teeth), C3: Dental Caries (above 11 teeth), P1: Periodontal disease (1 to 3 mm), P2: Periodontal Disease (6 to 8mm), MBL: Light Mobility, MBM: Moderate Mobility, MBS: severe mobility, EXWTF: Wisdom Tooth Extraction by Focus, EXWTO: Wisdom Tooth Extraction by Orthodontics, EXOF: Extraction by Focus. Total OCI mean (SD) = 8,66 (4,5). Total OCI Median = 9.

Table 3 – Salivary Melatonin levels and sampling interval

#	MPRE	MPOST	INTERV
1	0,858	0,858	38
2	4,594	0,000	36
3	2,495	0,000	41
4	9,319	2,189	36
5	3,997	0,000	79
6	9,604	1,610	64
7	3,654	0,000	44
8	13,404	6,480	53
9	4,882	0,000	52
10	2,428	0,000	44
11	13,279	4,170	46
12	12,798	6,039	32
Mean (SD)	6,776 (4,6)	1,779 (2,4)***	47,083 (13,4)
Median	4,738	0,429	44

MPRE and MPOST: Melatonin levels before and after Hematopoietic Stem cells transplantation respectively; INTERV: Interval of days of MPRE and MPOST sampling. Paired t test, *** $p < 0.001$

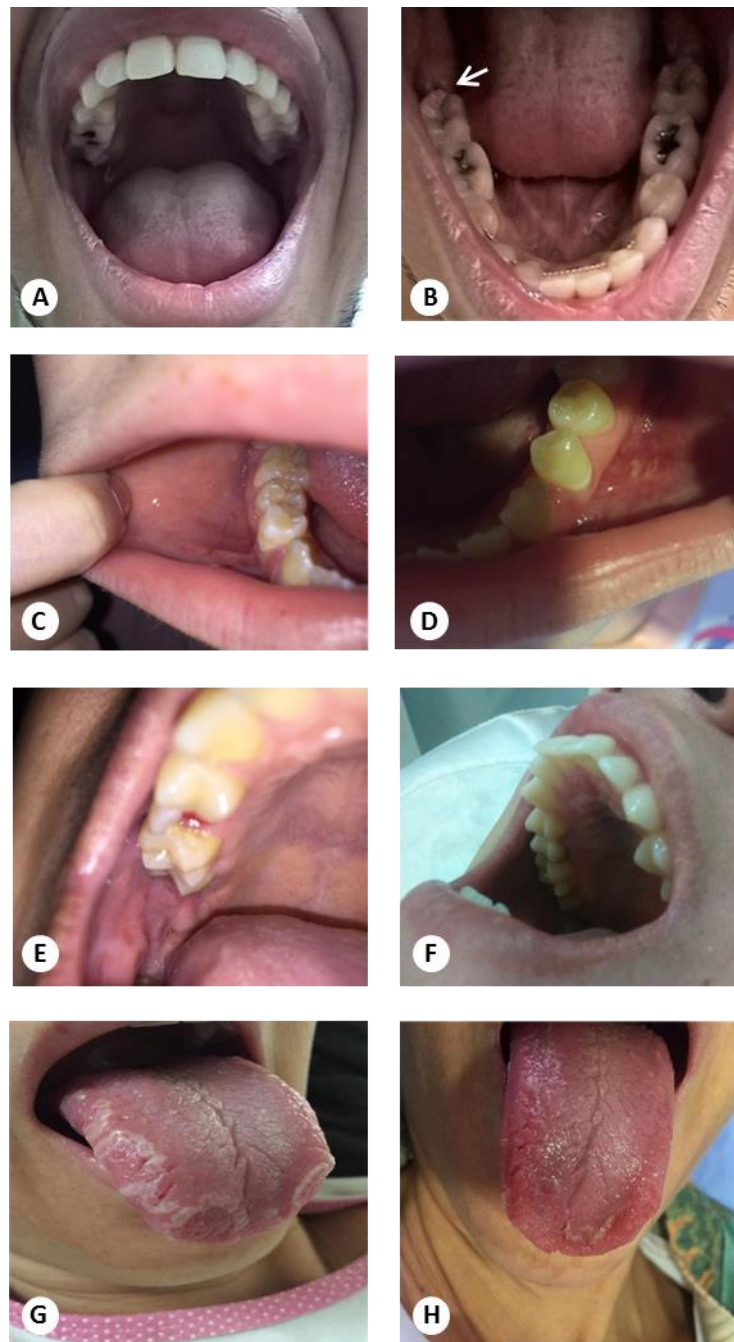


Figure 2. Representative manifestations and oral complications found in patients with CD before and after laser therapy. A and B) Upper and lower arch of the same patient with presence of caries infiltration, orthodontic restraint and periodontal disease in distal region of the tooth 47 (white arrow); Presence of nonspecific oral manifestation of CD, like Erythemas (C) and aphtas (D); Dental fracture (E) and posterior aesthetic-functional rehabilitation (F); G) Mucosal hyperplasia with the appearance of "cobblestones", specific oral lesions of Crohn's disease (DC) H) Total regression of the condition shown in (G) after low level lasertherapy.

Table 4 - Correlation between clinical parameters, melatonin and OCI-HSCT in CD patients

	GENDER	AGE	ETHNIC	CDAI	CRP	HSS	β2M	CALP	ALB	OCI	MPRE	MPOST	INTERV
GENDER		-	-	-0.4162*	-	-	-	-	-	-0,4191*	-	-	-
AGE			-	-	-0.6947*	-	-	-	-	-	-	-	-
ETHNIC				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CDAI					-	-	-	-	-0.6608*	-	-	-	-
PCR						-	-	-	-	-	-	-	-
HSS							0,6431*	-	-	-	-	-	-
β2M								-	-0,6042*	-	-	-	-
CALP									-	-	-	-	-
ALB										-	-	-	-
OCI											-0,7641**	-0,9359***	-
MPRE												0,7651**	-
MPOST													-

CDAI: Clinical Disease Activity Index, CRP: C-Reactive Protein, HSS: Haematological Scoring System, β2M: β2-Microglobulin, MPRE and MPOST: Melatonin levels before and after Hematopoietic Stem cells transplantation respectively; INTERV: Interval of days of MPRE and MPOST sampling. Pearson correlation between pairs of data-set. * $p < 0.5$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Anexo 1. Ficha clínica odontológica padronizada para avaliação dos pacientes do TCTH

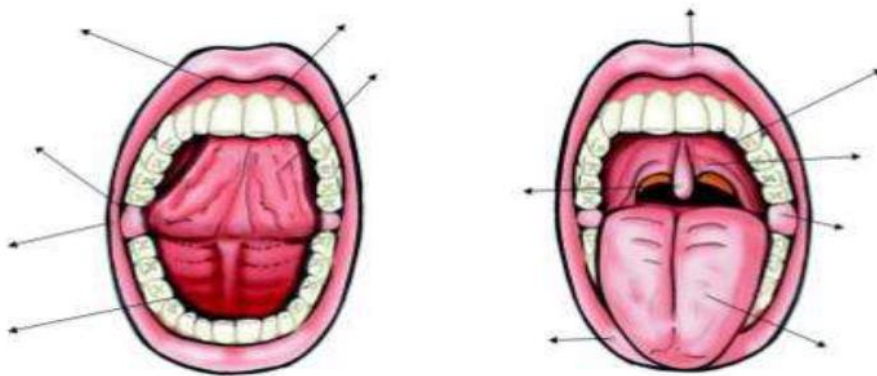
Dra. Andréa Engracia Ruiz CRO/SP 56383				Ficha nº	
Nome				Sexo () Masc. () Fem.	
End. Res.		CEP. -		Tel.	
End. Com.		CEP. -		Tel.	
Ocupação		Data de Nasc. / /		E. Civil	
CPF		RG		Indicado por	
Natural de				Nacionalidade	
Telefones: ()					
Dentes	Forma	Cor	Escala		

Condições Dentárias - Pré-tratamento								Data / /																																																																																							
<table border="1"> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>18</td><td>17</td><td>16</td><td>15</td><td>14</td><td>13</td><td>12</td><td>11</td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td>55</td><td>54</td><td>53</td><td>52</td><td>51</td></tr> </table>																																18	17	16	15	14	13	12	11				55	54	53	52	51	<table border="1"> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>21</td><td>22</td><td>23</td><td>24</td><td>25</td><td>26</td><td>27</td><td>28</td></tr> <tr><td>61</td><td>62</td><td>63</td><td>64</td><td>65</td><td></td><td></td><td></td></tr> </table>																																21	22	23	24	25	26	27	28	61	62	63	64	65			
18	17	16	15	14	13	12	11																																																																																								
			55	54	53	52	51																																																																																								
21	22	23	24	25	26	27	28																																																																																								
61	62	63	64	65																																																																																											
<table border="1"> <tr><td></td><td></td><td></td><td>85</td><td>84</td><td>83</td><td>82</td><td>81</td></tr> <tr><td>48</td><td>47</td><td>46</td><td>45</td><td>44</td><td>43</td><td>42</td><td>41</td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </table>											85	84	83	82	81	48	47	46	45	44	43	42	41																									<table border="1"> <tr><td>71</td><td>72</td><td>73</td><td>74</td><td>75</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>31</td><td>32</td><td>33</td><td>34</td><td>35</td><td>36</td><td>37</td><td>38</td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </table>								71	72	73	74	75				31	32	33	34	35	36	37	38																								
			85	84	83	82	81																																																																																								
48	47	46	45	44	43	42	41																																																																																								
71	72	73	74	75																																																																																											
31	32	33	34	35	36	37	38																																																																																								
Observações																																																																																															

18	17	16	55	54	53	52	51	61	62	63	64	65	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
			85	84	83	82	81	71	72	73	74	75			

LESÕES DE MUCOSA

Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Mucosa sem alterações	Dor ou eritema	Eritema e úlceras	Úlceras (o doente só tolera dieta líquida)	Úlceras (o doente não tolera nenhum tipo de alimentação)
	Mucosite oral ligeira a moderada		Mucosite oral grave	

[illegible]

[illegible][illegible]

[illegible][illegible]



TMO

PACIENTE: _____
DATA: ____/____/____ DIA TMO: D+ _____ ALO/ AUTO _____

Tempo Max:	
PA Max/Min:	
FC Max/Min	
FR:	
Diuresi 24 h:	
Peso	
C.A.	

Febre:	() Sim	() Não
Infecção:		
Ag. Etiológico:		
A.T.B:		

Dias de:
Cefepime:
Bactrin:
Targocid:
Cipro:
Levorfloxacin
Meropenem
Fluconazole:
Acyclovir:
Omeprazole:
CSA:
Prednisone:
Superan
Plasil
Dramin:
Zofran:

Toxicidades	Grau	Evolução
Mucosas	0 I II III IV	M / P / I
GI	0 I II III IV	M / P / I
Renal/Vesical	0 I II III IV	M / P / I
Hepática	0 I II III IV	M / P / I
Cardíaca	0 I II III IV	M / P / I
Pulmonar	0 I II III IV	M / P / I
SNC	0 I II III IV	M / P / I
Cutânea	0 I II III IV	M / P / I
DVO:	Sim/ Não (Clin / Hemod / Histo)	
Trato:		

Cateter
MTX
G-CSF
NPT

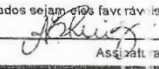
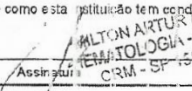
DECH Aguda	Sim / Não	Grau	Evolução
Pele	Sim / Não	I II III IV	M / P / I
Fígado	Sim / Não	I II III IV	M / P / I
Intestino	Sim / Não	I II III IV	M / P / I
Imonuss.:	CSA ()	MMF ()	Pred. ()

HB/HT:	BD:	CR:
LEUC:	BI:	U:
NEUT:	BT:	NA+:
PL:	TGO	K+:
GGT	TGP	FA

EVOLUÇÃO:	
-----------	--

Anexo 3. Registro do presente estudo junto ao CONEP.

 **MINISTÉRIO DA SAÚDE**
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS					FR - 364139	
Projeto de Pesquisa AVALIAÇÃO DAS COMPLICAÇÕES ORAIS E SUA INFLUÊNCIA NO TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS						
Área de Conhecimento 4.00 - Ciências da Saúde - 4.02 - Odontologia - Preve.				Grupo Grupo III	Nível Prevenção	
Área(s) Temática(s) Especial(is)				Fase Não se Aplica		
Unitermos COMPLICAÇÕES ORAIS, TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO, MUCOSITES						
Sujeitos na Pesquisa						
Nº de Sujeitos no Centro 10	Total Brasil 10	Nº de Sujeitos Total 10	Grupos Especiais			
Placebo NÃO	Medicamentos HIV / AIDS NÃO	Wash-out NÃO	Sem Tratamento Específico NÃO	Banco de Materiais Biológicos NÃO		
Pesquisador Responsável						
Pesquisador Responsável ANDREA ENGRACIA RUIZ		CPF 118.073.308-85		Identidade 18.973.903		
Área de Especialização ODONTOLÓGICA - ENDODONTIA		Maior Titulação ESPECIALISTA		Nacionalidade BRASILEIRA		
Endereço RUA OSWALDO ARANHA, 1278		Bairro PARQUE INDUSTRIAL		Cidade SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP		
Código Postal 15025-820	Telefone 17 30144267 / 17 32153862	Fax 17 32327203		Email dra.andrearui@gmail.com		
Termo de Compromisso Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Data: 11/04/2010 Assinatura: 						
Instituição Onde Será Realizado						
Nome Associação Portuguesa de Beneficência		CNPJ 59.972.307/0001-05		Nacional/Internacional Nacional		
Unidade/Órgão TMO		Participação Estrangeira NÃO		Projeto Multicêntrico NÃO		
Endereço Rua Luiz Vaz de Camões		Bairro Redentora		Cidade São José do Rio Preto - SP		
Código Postal	Telefone	Fax		Email		
Termo de Compromisso Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução. Nome: Milton Artur Ruiz Data: 11/04/2010 Assinatura: 						

O Projeto deverá ser entregue no CEP em até 30 dias a partir de 17/06/2010. Não ocorrendo a entrega nesse prazo esta Folha de Rosto será INVALIDADA.

Anexo 4. Formulário de apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa IMC



FORMULÁRIO DE APRECIÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA IMC

São José do Rio Preto, 30 de Setembro de 2010.

Referência: Avaliação das Complicações Orais e sua Influência no Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas.

Investigadora Principal: Andréa Engracia Ruiz

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Moléstias Cardiovasculares- IMC **analisou e aprovou** na reunião do CEP dia 22/09/2010, o Protocolo supracitado:

Prof. Dr. Oswaldo Tadeu Greco
Coordenador CEP/IMC



instituto de moléstias cardiovasculares

Equipamentos Cardiovasculares Rio Preto Ltda. - CNPJ/MF: 45.111.077/0001-77 - CRM: 17.382

Rua Castelo D'Água, 3030 - Fones (17) 3203-4000 - 3203-4022 - Fax: (17) 3203-4055 - CEP 15015-210 - São José do Rio Preto- SP - e-mail: imc@imc-online.com.br

08.107-4

Anexo 5. Termo de consentimento dos pacientes para o TCTH**Termo de Consentimento para o
Transplante de Células Tronco Hematopoéticas**

Instituição: **Associação Portuguesa de Beneficência de S.J. do Rio Preto, SP**

Eu _____

Autorizo a equipe médica da Unidade de TCTH/ da Associação Portuguesa de Beneficência, SJ Rio Preto – SP, representado pelo **Dr. Milton Artur Ruiz** a realizar em minha pessoa um **Transplante de Células Tronco Hematopoéticas**, estando plenamente informado das minhas condições clínicas atuais, do prognóstico de minha doença, das possibilidades de cura, enfim, dos riscos inerentes de tal procedimento. Os detalhes do procedimento foram discutidos comigo, inclusive os medicamentos que serão utilizadas além dos efeitos colaterais previstos.

Também foram enfatizados:

- I- A ocorrência certa de um quadro transitório de Aplasia Medular durante o qual o número de leucócitos e plaquetas estarão reduzido a níveis críticos, podendo ter a necessidade de transfusões e componentes do sangue, além do aumento de risco de infecções e hemorragias potencialmente graves, que cessará quando a medula óssea transplantada começar a funcionar, comumente de 3 a 4 semanas após o transplante;
 - II- A ocorrência de efeitos tóxicos é na sua grande maioria transitória, mas podem ser eventualmente graves ou fatais a curto ou longo prazo, provocadas pelos medicamentos, principalmente sobre fígado, pulmões, pele, rins e vias urinárias, tubo digestivo e sistema nervoso. Todos os temas foram abordados com detalhes, assim como as medidas adequadas ao seu tratamento;
 - III- A possibilidade de falha ou insuficiência de pega do enxerto e os efeitos colaterais tardios provocados pelos procedimentos e medicamentos administrados podem ser, dentre eles, esterilidade, aumento de chance de se adquirir outras doenças malignas, mesmo que vários anos após o transplante.
- Portanto, concordo em realizar o Transplante de Células Tronco Hematopoéticas.

Paciente ou representante legal

Dr. Milton Artur Ruiz

Testemunha

Data

Anexo 6. Registro do estudo com pacientes com Doença de Crohn submetidos ao TCTH no Clinical Trials do governo norte-americano.

ClinicalTrials.gov

A service of the U.S. National Institutes of Health

Autologous Unselected Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Refractory Crohn's Disease (AutoChron)

Verified December 2016 by Beneficência Portuguesa de São Paulo

Sponsor:

Beneficência Portuguesa de São Paulo

Information provided by (Responsible Party):

Milton Artur Ruiz, Beneficência Portuguesa de São Paulo

ClinicalTrials.gov Identifier:

NCT03000296

First received: December 9, 2016

Last updated: December 21, 2016

Last verified: December 2016

[History of Changes](#)

Purpose

This study evaluates the safety and clinical benefits of a therapeutics approach of conditioning regimen Cyclophosphamide (Cy) + Thymoglobulin r (ATG) + Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) followed by autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) rescue in therapy refractory Crohn's disease. It will be counted adverse events, clinical and endoscopic condition at various short and long-term time points.

Condition	Intervention	Phase
Crohn Disease Inflammatory Bowel Diseases Gastroenteritis	Procedure: Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation	Phase 1 Phase 2

Study Type: Interventional

Study Design: Intervention Model: Single Group Assignment

Masking: Open Label

Primary Purpose: Treatment

Official Title: Autologous Unselected Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Refractory Crohn's Disease

Responsible Party: Milton Artur Ruiz, MD,PhD., Beneficência Portuguesa de São Paulo

ClinicalTrials.gov Identifier: [NCT03000296](#) [History of Changes](#)

Other Study ID Numbers: autocrohnproject1

Study First Received: December 9, 2016

Last Updated: December 21, 2016

Individual Participant Data

Plan to Share IPD: Yes

Plan Description: The main objective is observe the safety and clinical benefit of autologous HSCT therapy in refractory patients with Crohn's disease. Evaluation during transplant period and 1, 3, 6, 12 and 24 months post-transplant. Safety be evaluated by the amount of related adverse events. Record adverse events in a standardized way. Secondary outcome measures will be disease remission: 1, 3, 6, 12 and 24 months post-transplant both clinical and endoscopic remission. The percentage of patients in sustained disease remission at 1, 3, 6, 12 and 24 months post HSCT will be determined. Sustained disease remission is defined as a CDAI < 150; HBI < 4, CCSI < 16, without the use of corticosteroids, immunosuppressant or biologic agents. Mucosal healing will be assessed during ileocolonoscopy at 6, 12, and 24 months following HSCT using SES, CDEIS and Rutgeerts endoscopy index. Health Quality life, Short Form 36 and IBDQ at 1 3 6 12 and 24 months post-Transplant.

Keywords provided by Beneficência Portuguesa de São Paulo:

autologous
lymphoablation
hematopoietic stem cell transplant
immune system
Bone marrow transplant

Additional relevant MeSH terms:

Crohn Disease
Inflammatory Bowel Diseases
Gastroenteritis

Gastrointestinal Diseases
Digestive System Diseases
Intestinal Diseases

ClinicalTrials.gov processed this record on February 20, 2017