

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
NÚCLEO DE PESQUISA EM IMUNOPATOLOGIA E IMUNOLOGIA CLÍNICA
CENTRO DE BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO**

Wellington Dorigheto Andrade Vieira

**MUCOSITE ORAL INDUZIDA EM RATOS *WISTAR* TRATADOS COM
ATORVASTATINA –
DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL PREVENTIVO, NÚMERO DE
LEUCÓCITOS E PROCESSO DE CAQUEXIA**

WELLINGTON DORIGHETO ANDRADE VIEIRA

**MUCOSITE ORAL INDUZIDA EM RATOS *Wistar* TRATADOS COM
ATORVASTATINA –
DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL PREVENTIVO, NÚMERO DE
LEUCÓCITOS E PROCESSO DE CAQUEXIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde.

Área de concentração: Saúde Brasileira

Orientador: Prof. Dr. Fernando Monteiro Aarestrup

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Inês da Cruz Campos

Juiz de Fora

2019

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Vieira, Wellington Dorigheto Andrade.

Mucosite oral induzida em ratos Wistar tratados com atorvastatina : Determinação do potencial preventivo, número de leucócitos e processo de caquexia / Wellington Dorigheto Andrade Vieira. -- 2019.

115 p. : il.

Orientador: Fernando Monteiro Aarestrup

Coorientadora: Maria Inês da Cruz Campos

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2019.

1. Mucosite Oral. 2. Leucopenia. 3. Atorvastatina. 4. Caquexia. 5. Quimioterapia. I. Aarestrup, Fernando Monteiro , orient. II. Campos, Maria Inês da Cruz , coorient. III. Título.

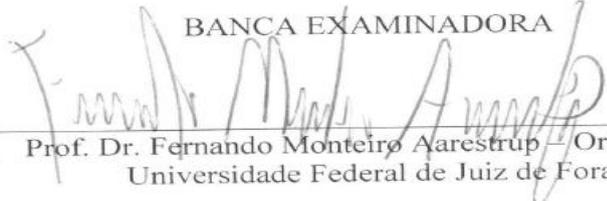
Wellington Dorigheto Andrade Vieira

Mucosite Oral Induzida em Ratos Wistar Tratados com Atorvastatina - Determinação do Potencial Preventivo, Número de Leucócitos e Processo de Caquexia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde. Área de Concentração: Saúde Brasileira

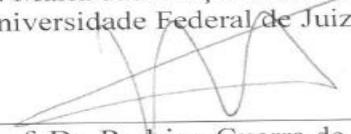
Aprovada em 07/10/19

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Fernando Monteiro Aarestrup - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora


Prof. Dra. Maria Inês da Cruz Campos - Coorientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora


Prof. Dra. Maria das Graças Afonso Miranda Chaves
Universidade Federal de Juiz de Fora


Prof. Dr. Rodrigo Guerra de Oliveira
Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – SUPREMA

Dedico este trabalho à minha avó Dona Aparecida, pessoa de fibra, coragem e caráter. Me criou como filho, me acolheu e me protegeu. Você sempre será meu porto seguro em minhas orações.

"A alegria de saber que você existe faz-me forte para suportar a tristeza de sua ausência".

A Deus,

"Grandes foram as lutas, maiores serão as vitórias. Sempre estiveste comigo. Muitas vezes pensei que este momento nunca chegaria, queria recuar ou parar, no entanto, Tu sempre estavas presente, fazendo da derrota uma vitória, da fraqueza uma força. Com Tua ajuda venci. A emoção é forte. Não cheguei ao fim, mas ao início de uma longa caminhada. Por isso digo a Ti: muito obrigado".

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais, **José de Andrade e Maria do Rosário**, pelo enorme sacrifício para minha formação, desde a graduação à pós-graduação. Obrigado por sempre me apoiarem em minhas decisões, estarem sempre a meu lado em todas os momentos de minha caminhada e me estimulando sempre a seguir em frente.

À minha coorientadora, **Prf^a Maria Inês da Cruz Campos**, não há palavras que possam descrever a pessoa maravilhosa que é! Agradeço a Deus por tudo que fez por mim e que ainda vem fazendo, desde a graduação, especialização e agora no mestrado. Obrigado minha segunda mãe!!!

Ao orientador professor, **Prof. Fernando Monteiro Aarestrup**, por ter aceitado ser meu orientador no mestrado e pelo incentivo durante toda esta caminhada; por confiar em mim, demonstrado sua competência e conhecimento científico no decorrer da pesquisa.

Ao professor e pesquisador do Centro de Biologia da Reprodução, **Akinori Cardozo Nagato**, pelas orientações, críticas construtivas e suporte em minha pesquisa.

À minha irmã, **Thaynara**, pela sua paciência e amizade, carinho, incentivo, não só durante este curso, mas em toda a minha vida pessoal, profissional e por estar ao meu lado sempre.

À minha prima **Janira**, mesmo distante, por fazer parte da minha história de vida.

Aos meus colegas do Núcleo de Imunopatologia e Imunologia Clínica, que me acolheram e me orientaram ao longo destes dois anos, que se tornaram companheiros

de trabalho e, muito além, amigos! Agradeço pelo carinho e pelos momentos que passamos juntos. Em especial aos **amigos Álvaro, Fabiano e Juliana**, sempre dispostos a ajudar a todos. Inúmeras vezes sentamos um ao lado do outro e começávamos a conversar sobre nossas pesquisas, felicidades e dificuldades que enfrentávamos a cada dia.

À **Diretora do Centro de Biologia da Reprodução, Prof. Dra. Vera Maria Peters**, pela oportunidade de desenvolver minha pesquisa, pelas inúmeras orientações para o desenvolvimento e execução deste projeto e por permitir que eu utilizasse as dependências daquele centro durante minhas pesquisas.

Ao **veterinário, Dr. Ricardo Palhares Zschaber de Araújo**, que me orientou em minha metodologia, com suas observações clínicas para a realização desta pesquisa, tornando-a desafiadora e agradável de se realizar.

Ao **funcionário do Centro de Biologia da Reprodução da UFJF, Luiz Carlos**, que me auxiliou durante todos os dias da experimentação animal; dias de semana, sábados, domingos e feriados, sempre com a mesma alegria, disposição e carinho. Me ensinou a ver a pesquisa animal com outros olhos e com uma motivação cada vez maior de realizá-la. Sem seu acompanhamento diário, não sei se conseguiria.

À **funcionária do Centro de Biologia da Reprodução da UFJF, Beth**, sempre amável e atenciosa.

Às **técnicas de laboratório, Mariana e Samara**, ajudando nas eutanásias e cirurgias para remoção das amostras, sempre muito atenciosas e dispostas a ajudar.

Aos **técnicos de laboratório, Pedro, Jéssica e Estephani**, pelo suporte durante a

realização do experimento dentro do biotério.

Às **funcionárias do Centro de Biologia da Reprodução da UFJF, Lorena e Raquel**, que, sempre com seu jeito meigo e de forma carinhosa, me ajudaram nos momentos de maior angústia e ansiedade.

Aos **pós-graduandos e pós-graduados, em especial, Cristina, Ivair, Leonardo, Jéssica e Priscila**, companhias diárias, sempre presentes durante esta caminhada rumo à concretização do mestrado.

Aos **profissionais** que trabalharam comigo antes que eu iniciasse meu mestrado e que, durante minha pós-graduação, mantivemos contato, fazendo com que nossa amizade aumentasse a cada dia. Em especial à **Dra. Tânia Mello**, por quem tenho imensa admiração e carinho. Sempre me motivando a ir além e acreditando que eu poderia. A você, meu carinho e meu enorme agradecimento por tudo que fez e ainda tem feito por mim!

À **funcionária do Programa de Pós-Graduação em Saúde, Débora**, que sempre foi extremamente atenciosa, educada, simpática. Sempre disposta a nos ajudar e tirar nossas dúvidas.

Aos **professores do Instituto de Ciências Biológicas - Departamento de Morfologia**, em especial aos professores **Maria Christina e Rogério**, que me acolheram com carinho, atenção e me ensinaram a Histologia, ajudando a desenvolver em minha vida esta área de ensino que aprendi a gostar.

Ao **técnico de laboratório do Departamento de Morfologia, Carlos**, que me ajudou e ensinou técnicas histológicas, que foram fundamentais para a realização de minha

pesquisa e docência.

Aos **meus amigos**, em especial **Felipe**, por sempre estar presente em todos os momentos de minha vida.

E a todos aqueles que, mesmo no anonimato, mas com elevado espírito científico, colaboraram com esta pesquisa de alguma maneira, meu muito obrigado.

"Sonhe com aquilo que você quer ser, porque você possui apenas uma vida e nela só se tem uma chance de fazer aquilo que quer.

Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.

Dificuldades para fazê-la forte.

Tristeza para fazê-la humana.

E esperança suficiente para fazê-la feliz.

As pessoas mais felizes não têm as melhores coisas.

Elas sabem fazer o melhor das oportunidades que aparecem em seus caminhos.

A felicidade aparece para aqueles que choram. Para aqueles que machucam. Para aqueles que buscam e tentam sempre. E para aqueles que reconhecem a importância das pessoas que passaram por suas vidas".

(Clarisse Lispector)

VIEIRA, W.D.A. **Mucosite oral induzida em ratos *Wistar* tratados com atorvastatina – Determinação do potencial preventivo, número de leucócitos e processo de caquexia.** Juiz de Fora (MG), 2019. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Saúde – Mestrado em Saude) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora.

RESUMO

A mucosite oral acomete cerca de 100% dos pacientes submetidos à radioterapia na região de cabeça e pescoço e daqueles em tratamento concomitante e cerca de 80% daqueles submetidos à quimioterapia. O 5-Fluorouracil (5-FU) é um fármaco quimioterápico amplamente utilizado para tratamento do câncer, porém apresenta inúmeros efeitos colaterais como mucosite oral, caquexia e leucopenia. O presente trabalho propôs investigar o potencial preventivo da atorvastatina sobre os efeitos do 5-FU, uma vez que estudos recentes evidenciaram a ação benéfica da atorvastatina sobre a perda de peso exacerbada. Para o desenvolvimento do estudo, ratos *Wistar* foram distribuídos em grupos [Grupo I (5-FU + 1mg de atorvastatina); Grupo II (5-FU + 5mg de atorvastatina); Grupo III (5-FU + 10mg de atorvastatina) e Grupo Controle (5-FU + Solução Salina 0,9%)]. Foi possível verificar através da análise histológica que a dosagem de 1mg de atorvastatina manteve a integridade da mucosa jugal dos animais com espessamento da camada epitelial, quando comparado aos animais dos Grupos II e III que apresentaram discreto infiltrado inflamatório e delgada camada de queratina. A contagem global de leucócitos demonstrou que o uso de 1mg de atorvastatina não elevou o número de leucócitos, como ocorreu nos Grupos II e III, mantendo o leucograma dentro dos valores padrões mínimos, principalmente no Grupo III. Após a indução da mucosite oral através do uso de 5-FU e escarificação das mucosas, foi possível verificar intensa caquexia no Grupo I, enquanto nos Grupos II e III houve melhora da perda de peso com tendência a ganho ponderal. O potencial preventivo da atorvastatina em ratos *wistar* foi determinado sendo definida a dose de 10mg/kg/dia como a mais indicada.

Palavras-chave: Leucopenia. Mucosite oral. Atorvastatina. Caquexia. Quimioterapia.

VIEIRA, W.D.A. **Induced Oral Mucositis in Atorvastatin-Treated *Wistar* Rats - Determination of the Preventive Potential, Leukocyte Count and Cachexia Process.** Juiz de Fora (MG), 2019. Dissertation (Post-Graduation Health Program – Master’s Degree in Health) – Medical School, Federal University of Juiz de Fora.

ABSTRACT

Oral mucositis affects about 100% of patients undergoing head and neck radiation therapy and those undergoing concurrent treatment, and about 80% of those undergoing chemotherapy. 5-Fluorouracil (5-FU) is a widely used chemotherapy drug for cancer treatment, but has numerous side effects such as oral mucositis, cachexia and leukopenia. The aim of this study is to investigate the preventive potential of atorvastatin on the effects of 5-FU, since recent studies have shown a beneficial action of atorvastatin on exacerbated weight loss. For the development of this study, *Wistar* rats were divided into groups [Group I (5-FU + 1mg atorvastatin); Group II (5-FU + 5mg atorvastatin); Group III (5-FU + 10mg atorvastatin); and Control Group (5-FU + 0.9% Saline Solution)]. Based on the histological analysis, the 1mg atorvastatin dosage maintained the integrity of the jugal mucosa of the animals with epithelial layer thickening, when compared to animals in Groups II and III which showed slight inflammatory infiltrate and a thin keratin layer. The global leukocyte count showed that the use of 1mg atorvastatin did not increase the number of leukocytes, as seen in Groups II and III, keeping the leukogram within the minimum standard values, especially in Group III. After induction of oral mucositis with the use of 5-FU and scarification of the mucosae, severe cachexia occurred in Group I, while in Groups II and III there was an improvement in weight loss with a tendency towards weight gain. The preventive potential of atorvastatin in *Wistar* rats was determined, and the 10mg/kg/day dose was defined as the most indicated.

Keywords: Leukopenia. Oral mucositis. Atorvastatin. Cachexia. Chemotherapy

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	A e B - Fotografia apresentando mucosa jugal de animal com discreta área eritematosa e início de lesão ulcerativa (mucosite oral); C - Fotografia apresentando mucosa jugal com áreas eritematosas e hiperemia.....	24
Figura 2	Desenho representativo das fases da fisiopatologia da mucosite oral.....	29
Figura 3	Quadro de administração medicamentosa, indução da mucosite oral, escarificação e eutanásias.....	51
Figura 4	Fotografia demonstrando a escarificação realizada na mucosa jugal, bilateral, com agulha e sob contenção física.....	52
Figura 5	Fotografia demonstrando a remoção excisional das bochechas.....	53
Figura 6	Fotografia do programa utilizado para captura das imagens histológicas.....	55
Figura 7	A – Grupo Controle: Animal apresentando sangramento ocular, nasal e secreção; B - Grupo I: Animal apresentando sangramento nasal e ocular; C – Grupo II: Animal com ausência de sinais clínicos de sangramento nasal, ocular e caquexia. D/E – Grupo III: Animal com ausência de sinais clínicos de sangramento nasal, ocular e apresentando alopecia na região da face.....	58
Figura 8	A - Animal sadio, demonstrando a mucosa com aspecto normal, rosa pálido, lisa, brilhante e homogênea. B/C – Grupo Controle: Animal com extensas áreas eritematosas, hiperemia e início de lesão ulcerativa (setas e limitação).....	61

Figura 9	A /B /C: - Grupo I / II / III: Animais apresentaram mucosas jugais com características normais, rosa pálido, lisa, brilhante, homogênea apresentando sinais clínicos da escarificação (setas).....	62
	.	
Figura 10	Fotomicrografia mostrando imagem de corte histológico de mucosa jugal corada em HE, em aumento de 40X. A: Grupo Controle - evidenciação de fina camada do tecido epitelial com exposição do tecido conjuntivo, caracterizando presença de úlcera – Mucosite Oral. B: Grupo I - preservação e pequeno aumento da espessura do epitélio. C/D: Grupo II/III - preservação da integridade epitelial e delgada camada do epitélio.....	63
Figura 11	Leucograma dos grupos experimentais.....	64
Gráfico 1	Avaliação do consumo de ração por animal – comparativo entre os grupos.....	59
Gráfico 2	Avaliação do peso corporal (caquexia) – comparativo entre os grupos.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS E SÍMBOLOS

5-FU	- 5-Fluorouracil
α	- Alfa
β	- Beta
\pm	- Desvio Padrão (Mais ou Menos)
$\beta 1$	- Fator Beta 1
D	- Dia
G1	- Fase Pós Sintética
g	- Gramas
T	- Células T
=	- Igual
<	- Menor que
N	- Número total da amostra
n	- Número de amostra por grupo
p	- Nível de significância
%	- Porcentagem
®	- Marca registrada
X	- Vezes (Magnificação)
AIT	- Ataque Isquêmico Transitório
ATP	- Adenosina Trifosfato
AVC	- Acidente Vascular Cerebral
CBR	- Centro de Biologia da Reprodução
CEUA	- Comitê de Ética no Uso de Animais
COBEA	- Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DNA	- Ácido Desoxiribonucleico
EDTA	- Óxido Nítrico Sintase Endotelial
eNOS	- Ácido Etilenodiamino Tetra Acético
FDA	- Food and Drugs Administration
et al	- E colaboradores
EMA	- European Medicine Agency
FGS's	- Fatores de Crescimento de Fibroblastos
Fase S	- Síntese de DNA

G	- Gaule
GTP	- Trifosfato de Guanosina
HDL	- Lipoproteína de Alta Densidade
HE	- Hematoxilina e Eosina
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-Coenzima A Reductase
IL	- Interleucina
iNOS	- Óxido nítrico de sintase induzida
ip	- Intraperitoneal
KGF-1	- Fator de Crescimento de Queratinócitos
LDL	- Lipoproteína de Baixa Densidade
LLLT	Terapia a Laser de Baixa Intensidade
MAPK	- Proteína quinase ativada por mitógeno
mg/kg	- Miligrama por quilograma
mg	- Miligrama
mL	- Mililitro
mm ³	- Milímetros Cúbicos
MO	- Mucosite Oral
MG	- Minas Gerais
NFkappaβ	- Fator de crescimento nuclear kappa Beta
NIH	- National Institute of Health
NO	- Óxido Nítrico
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PTX	- Pentoxifilina
RNA	- Ácido Ribonucleico
RNA _m	- Ácido Ribonucleico mensageiro
ROS	- Espécie Reativa de Oxigênio
TGF-β	- Fator de Crescimento Transformador Beta
TNF-α	- Fator de Necrose Tumoral Alfa
UFJF	- Universidade Federal de Juiz de Fora
USA	- United States of America

VSMC - Célula Muscular Vascular Lisa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1 Mucosite oral	24
2.1.1 Incidência da mucosite oral	27
2.1.2 Fatores de risco relacionados ao paciente	27
2.1.3 Curso clínico da mucosite oral.....	28
2.1.4 Características clínicas da mucosite oral.....	31
2.1.5 Tratamento da mucosite oral	32
2.1.5.1 Terapia bucal	33
2.1.5.2 Glutamina	34
2.1.6 Inibidores de produção de inflamação e citocinas.....	34
2.1.6.1 Benzidamina.....	34
2.1.6.2 Pentoxifilina	35
2.1.6.3 Palifermina.....	35
2.1.7 Estratégias físicas.....	36
2.1.7.1 Crioterapia oral.....	36
2.1.7.2 Terapia a laser (Fotobiomodulação).....	36
2.1.8 Gerenciamento da dor.....	37
2.1.9 Outras abordagens.....	38
2.1.9.1 Remédios naturais.....	38
2.2 Terapias antineoplásicas	38
2.2.1 Radioterapia	38
2.2.2 Quimioterapia	40
2.2.2.1 Fármaco (tratamento) antineoplásico.....	40
2.2.2.1.1 - 5-Fluorouracil (5-FU).....	41
2.3 Leucometria.....	43
2.4 Atorvastatina	44
2.5 Modelo animal experimental para mucosite oral.....	46
3 Hipótese	48
4 Objetivos	49
4.1 Objetivo geral.....	49
4.2 Objetivos específicos.....	49

5 Materiais e Métodos.....	50
5.1 Aspectos Éticos.....	50
5.2 Animais de experimentação.....	50
5.3 Protocolo de administração medicamentosa.....	51
5.4 Indução da mucosite oral.....	52
5.5 Acompanhamento dos animais durante o tratamento.....	52
5.6 Obtenção das amostras e avaliação histopatológica	53
5.7 Técnica histológica.....	53
5.8 Leucometria.....	55
5.9 Análise estatística.....	55
6.0 Parâmetros para avaliação.....	56
6 Resultados.....	56
6.1 Análise clínica dos animais.....	57
6.2 Avaliação do consumo de ração por animal – comparativo entre os grupos.....	58
6.3 Caquexia: avaliação do peso corporal – comparativo entre os grupos.....	59
6.4 Efeito da atorvastatina, em diferentes dosagens na prevenção da mucosite oral – análise macroscópica.....	60
6.5 Análise histológica das mucosas.....	62
6.6 Leucograma.....	63
7 Discussão.....	65
8 Conclusão.....	70
9 Referências bibliográficas	71
APÊNDICE A – APROVAÇÃO DO CEUA.....	83
APÊNDICE B – ARTIGO SUBMETIDO:	
INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION BIOLOGY.....	85
APÊNDICE C - ARTIGO PUBLICADO EM PERIÓDICO:	
REVISTA INTERDISCIPLINAR DE ESTUDOS EXPERIMENTAIS.....	105
ANEXO A – PUBLICAÇÕES DE RESUMOS EM ANAIS DE CONGRESSO.....	112
ANEXO B – APRESENTAÇÕES DE PROJETO DE PESQUISA COM RESULTADOS PARCIAIS 2018/2019.....	114

ANEXO C – PAINEL APRESENTADO E PREMIADO EM 1º LUGAR NA CATEGORIA REVISÃO DE LITERATURA – PÓS GRADUAÇÃO – 10º Congresso de odontologia da Zona da Mata.....115

ANEXO D – PAINEL APRESENTADO E PREMIADO EM 1º LUGAR NA MODALIDADE PESQUISA CIENTÍFICA – PÓS GRADUAÇÃO – 2º Fórum Científico e Tecnológico em Odontologia de Juiz de Fora – Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora.....115

1 - INTRODUÇÃO

A mucosite oral (MO) constitui um quadro inflamatório na mucosa bucal decorrente dos efeitos citotóxicos do tratamento antineoplásico por quimioterapia e/ou radioterapia. É caracterizada por lesões ulcerativas, eritematosas e com presença de edema, podendo apresentar alterações que variam desde uma leve ardência a dor intensa. Os pacientes podem apresentar sangramento espontâneo no local da lesão, diarreia e disfunção, dependendo do tecido afetado, devido às altas doses do medicamento antineoplásico. Acomete, aproximadamente, 80% dos pacientes que são submetidos à quimioterapia convencional e quase 100% daqueles que recebem terapia concomitante (quimioterapia e radioterapia), além daqueles submetidos à radioterapia de cabeça e pescoço (KOSTLER et al., 2001; SONIS, 2004; AHMED, SELIM; EL-SAYED, 2017; KANAGALINGAM et al., 2018; KIRK et al., 2018; SHIMAMURA et al., 2018).

Em muitos casos, a MO afeta a alimentação, a deglutição e a qualidade de vida do paciente, devido à dor severa que ela provoca nos tecidos da cavidade bucal. Em muitos casos, faz com que o paciente interrompa ou fracione as doses do quimioterápico/radioterápico, conduzindo o paciente à caquexia e à nutrição parenteral por meio de sondas nasogástricas (LALLA; SONIS; PETERSON, 2008; CAMPOS et al., 2014; HITOMI et al., 2017; SHIMAMURA et al., 2018).

Dentre os fármacos antineoplásicos utilizados destaca-se como principal fármaco comumente utilizado o 5-Fluorouracil (5-FU), devido à sua aplicação clínica, efetividade e seu baixo custo financeiro. Existem, ainda, outras opções tais como bleomicina, citosina, arabinosida, acitomicina D, daunorubicina, daunomicina e metotrexato (GALVÃO; CASTRO; CONSOLARO, 2006; CAMPOS et al., 2015; SOFIS et al., 2017).

A mucosa bucal apresenta alta atividade mitótica e alto *turnover* celular. Devido ao alto grau de descamação celular há a necessidade contínua de multiplicação celular para recobrir a mucosa bucal. Os tecidos com alta atividade mitótica são os mais afetados pela radiação e quimioterapia, uma vez que as fases mais sensíveis do ciclo celular são a mitose e G1, onde ocorre síntese intensa de proteínas e ácido ribonucleico (RNA), resultando no aumento de tamanho da célula. Consequentemente, afeta a mucosa de forma mais rápida, fazendo com que ela perca sua capacidade de superar o processo normal de esfoliação, associada à inflamação e edema decorrentes

dos medicamentos antineoplásicos (SONIS; COSTELLO, 1995; ALBUQUERQUE; CAMARGO, 2007; SONIS; VILLA, 2018).

Diversos autores atribuem a evolução da reação inflamatória local no sítio da mucosite à condição sistêmica do paciente, principalmente à sua leucometria durante o tratamento oncológico (SONIS, 1998; LIMA et al., 2004; LALLA; SONIS; PETERSON, 2008; CAMPOS et al., 2015).

Clinicamente, a MO pode ser classificada em cinco fases ou eventos biológicos, sendo: 0 – Nenhum tipo de lesão tecidual; 1 - Fase de iniciação, inflamatória ou grau leve: exposição dos tecidos bucais superficiais devido aos danos teciduais sobre os componentes da mucosa; 2 – Fase de regulação e geração de mensagens, de potencialização ou grau moderado: danos à integridade da mucosa, com presença de eritema ou ulceração; 3 - Fase de amplificação e de sinalização ou grau severo: grande áreas ulceradas; 4 – Fase ulcerativa ou grau de ameaça à vida: potencialização do dano tecidual, onde o paciente necessita de nutrição parenteral ou enteral para alimentação; 5 – Fase de cura: ocorre após a cessação do tratamento do câncer (SKEFF et al., 2014; MEDEIROS et al., 2011; AHMED et al., 2017).

Diferentes fármacos e abordagens terapêuticas têm sido utilizados como forma de aliviar a sintomatologia dolorosa da mucosite, incluindo intensificar cuidados com a higiene bucal, uso de agentes antimicrobianos, de agentes antiinflamatórios, citocinas, fatores de crescimento, pomadas de uso tópico com ação imunossupressora, e laserterapia no local das lesões como forma de acelerar o processo de cicatrização. Podem ser utilizados, ainda, imunomoduladores com o objetivo de controlar o desenvolvimento de efeitos colaterais durante o tratamento (SANTOS, MAGALHÃES, 2006; SONIS, 2010; ARAÚJO et al., 2015; CAMPOS et al., 2015).

Vários outros fármacos têm sido utilizados em pesquisas como forma de prevenção da MO como a palifermina, pentoxifilina e a atorvastatina. Esta última é classificada como uma estatina, classe de medicamento utilizado como agentes redutores do colesterol “ruim” ou LDL (baixa densidade de lipoproteína) e triglicerídeos no sangue; age também aumentando os níveis de colesterol “bom” ou HDL (lipoproteína de alta densidade), devido à sua inibição da hidroxil-3-metilglutaril coenzima A reductase (HMG-CoA), enzima limitante da taxa de síntese de colesterol. Pesquisas recentes destacaram, ainda, que as estatinas possuem efeitos pró-inflamatórios em células mononucleares do sangue ativadas por mitógeno em monócitos (MEDEIROS et al., 2011; CAMPOS et al., 2015; ANDALIB; MOLHEMAZAR;

DANAFAR, 2018).

A atorvastatina também é utilizada para tratar o colesterol alto e diminuir o risco de acidente vascular cerebral, ataque cardíaco ou outras complicações cardíacas em pacientes com diabetes tipo 2 (ANDALIB; MOLHEMAZAR; DANAFAR, 2018).

Estudos sobre a MO vêm sendo desenvolvidos com objetivo de controlar e, até mesmo, tratar esta doença, permitindo o uso seguro de doses terapêuticas agressivas para o tratamento oncológico e aumentando a sobrevida do paciente (LALLA; SONIS; PETERSON, 2008; CAMPOS et al., 2015).

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - Mucosite oral

A mucosite oral (MO) foi descrita, pela primeira vez na literatura, em 1990, como uma síndrome caracterizada por lesões ulcerativas da mucosa bucal em decorrência do tratamento antineoplásico. São lesões decorrentes dos efeitos citotóxicos provocados por quimioterapia e/ou radioterapia de cabeça e pescoço e considerada um dos efeitos colaterais mais comuns, sendo caracterizada por eritema e erosões na cavidade bucal. De todas as consequências da terapia antineoplásica é descrita como a mais severa complicação não hematológica (Figura 1). Com relação ao caráter sistêmico dos efeitos da medicação, a alta razão de replicação celular epitelial faz com que a mucosa gastrointestinal e, particularmente, a mucosa bucal, sejam mais susceptíveis à citotoxicidade medicamentosa quando em relação à outras superfícies mucosas ou à pele. Assim sendo, a toxicidade direta da mucosa, decorrente da quimioterapia e radioterapia, constitui a principal causa da mucosite (SONIS, 1990; BARASCH; EPSTEIN, 2011; MEDEIROS et al., 2011; FERREIRA et al., 2012; SKEFF et al., 2014; ARAÚJO et al., 2015; SONIS; VILLA, 2018).

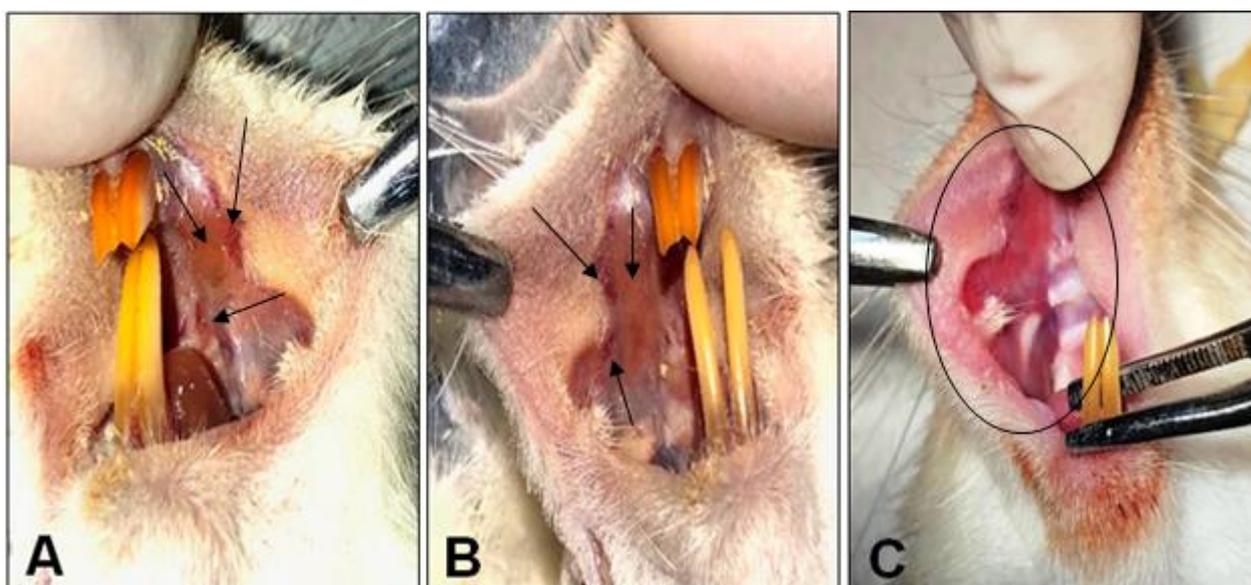


Figura 1 A e B - Fotografia apresentando mucosa jugal de animal com discreta área eritematosa e início de lesão ulcerativa (mucosite oral); C - Fotografia apresentando mucosa jugal demonstrando áreas eritematosas e hiperemia (setas e demarcações).
Fonte: Arquivo pessoal do autor.

A terapêutica comumente preconizada para o tratamento do câncer tem sido a quimioterapia, a radioterapia, tratamento concomitante - associação de quimioterapia e radioterapia, além da associação da quimioterapia/radioterapia com tratamento cirúrgico, imunoterapia ou transplante de células progenitoras hematopoiéticas (DOGAN, CAN, MEREAL, 2017; SPEZZIA, 2015; HITOMI et al., 2017; KIN et al, 2017; SHIMAMURA et al., 2018; WALLADBEGI et al., 2018).

Todavia, o objetivo do tratamento antineoplásico por radioterapia e quimioterapia é promover a inibição da divisão celular, onde há atuação desses tratamentos. Além de atuar sobre as células neoplásicas, outras células do organismo, que são consideradas saudáveis, são afetadas pelo fato de não haver uma seleção das células cancerígenas e saudáveis. As células saudáveis normais, como as da mucosa bucal, gástricas e hematopoiéticas sofrem danos teciduais, originando feridas na superfície do tecido (SPEZZIA, 2015; KIRK et al., 2018; SHIMAMURA et al., 2018).

A mucosa bucal apresenta alta atividade mitótica e alto *turnover* celular. Além do fato de haver alto grau de descamação tecidual, tem-se contínua multiplicação celular para recobrir a mucosa. O revestimento da cavidade bucal e de todo o trato gastrointestinal apresentam alta atividade mitótica e respondem rapidamente aos tratamentos antineoplásicos pelo fato das fases mais sensíveis do ciclo celular serem a mitose e G1 (fase pós-sintética). Devido a esta alta capacidade mitótica, a mucosa é rapidamente afetada, dado o fato dos quimioterápicos interferirem no processo de proliferação e divisão celular. A ação dos quimioterápicos faz com que o tecido da mucosa fique sensível à sua ação, devido à constante renovação tecidual (SONIS, 2004; SANTOS; MAGALHÃES, 2006; SONIS; VILLA, 2018).

As complicações orais mais associadas com a terapia do câncer incluem sangramento, dor, xerostomia e mucosite (LALLA; SONIS; PETERSON, 2008). De acordo com Ferreira et al. (2012), há perda tecidual decorrente do efeito colateral direto dos quimioterápicos que inibem a replicação do DNA (ácido desoxiribonucleico) e, conseqüentemente, inibem a proliferação celular da mucosa bucal. Eventos histopatológicos que levam à ulceração são resultados tanto da atrofia da mucosa devido à degradação do colágeno na matriz extracelular da lâmina própria, quanto da falta de proliferação de células-fonte basais do epitélio para a renovação do revestimento.

Dentre as manifestações da MO estão a mudança na coloração da mucosa que reveste a cavidade bucal, ficando esbranquiçada pela descamação da queratina. Logo

após, ocorre perda desta camada com a substituição por mucosa atrófica, causando edema e eritema, seguidas por ulceração no tecido afetado. Estas úlceras são, em sua maioria, recobertas por uma pseudomembrana fibrinopurulenta, amarelada e destacável (LALLA; SONIS; PETERSON, 2008).

Clinicamente, sua forma pode ser modificada por vários fatores como traumatismos ou irritações físicas e químicas na mucosa, infecções e disfunções das glândulas salivares, assim como condições imunes inespecíficas, como pêfigo ou imunodeficiência de algumas imunoglobulinas. A toxicidade medicamentosa compromete a mucosa bucal e impede o reparo das lesões causadas pelas funções fisiológicas (BERGER; KILROY, 2001; OWLIA; KAZEMEINI; GHOLAMI, 2012).

Restaurações dentárias defeituosas, dentes fraturados ou próteses dentárias mal adaptadas podem contribuir para a exacerbação de tais lesões (SONIS, 1990; CAMPOS et al., 2014; SPEZIA, 2015).

Há também uma forte correlação entre a higiene bucal deficiente e o aparecimento de ulcerações. Quando os problemas dentários e periodontais são resolvidos, aliados a uma higienização bucal adequada, há uma redução significativa das complicações orais, mesmo quando o paciente é submetido a protocolos quimioterápicos para o câncer (VANDERHOOF et al., 1990; MCCARTHY et al., 1998; DODD et al., 1999; KEEFE et al., 2007; SCHIRMER; FERRARI; TRINDADE, 2012).

As taxas de renovação celular variam de quatro a cinco dias nas superfícies mucosas não queratinizadas e até 14 dias para as mucosas queratinizadas, como o palato duro. Quanto mais rápida a taxa de divisão celular das células epiteliais progenitoras, maior a susceptibilidade à lesão causada pela quimioterapia. A lesão da mucosa é caracterizada pela atrofia destas camadas celulares, com presença de infiltrado inflamatório, degradação do colágeno e edema. Clinicamente, estas alterações são evidentes pelo aparecimento de rubor da mucosa podendo ocasionar ulceração caso o estímulo persista (PETERSON; D'AMBRÓSIO, 1994; PETERSON, 2006).

O efeito citotóxico dos quimioterápicos sobre a mucosa bucal é discreto nos primeiros dias de tratamento, tornando-se gradualmente mais severo a partir do fim da primeira semana (geralmente por volta de 7 a 10 dias); após duas semanas do final do tratamento há resolução das lesões bucais (SCHUBERT; EPSTEIN; PETERSON, 2000; PETERSON, 2006; GOMES et al., 2009; FEKRAZAD; CHINIFORUSH, 2014).

Trucci, Veeck e Morosolli (2009) afirmaram que os primeiros sintomas apresentados são queimação da boca e mudança na coloração da mucosa que se torna

branca devido à descamação da queratina. Posteriormente, este epitélio torna-se atrófico, edemaciado, eritematoso e friável, o que permite o desenvolvimento de úlceras com formação de uma pseudomembrana caracterizada pela presença de uma camada fibrinopurulenta e amarelada (LALLA; SONIS; PETERSON, 2008).

2.1.1 - Incidência da mucosite oral

A incidência clínica da MO depende da localização anatômica do tumor e o protocolo de quimioterapia e/ou radioterapia. Clinicamente, sua incidência tem sido relatada em torno de 40 a 80% entre pacientes que receberam tratamento quimioterápico, podendo chegar a, aproximadamente, 100% dos pacientes que receberam tratamento concomitante ou, em casos de pacientes que receberam altas doses de quimioterápico, transplante de medula óssea e radioterapia de cabeça e pescoço (MEDEIROS et al., 2011; KUDUBAN et al., 2016; CINAUSERO et al., 2017; SHIMAMURA et al., 2018).

2.1.2 - Fatores de risco relacionados ao paciente

É nítido que qualquer paciente em tratamento antineoplásico está sujeito ao risco de qualquer toxicidade e de desenvolver a MO como efeito colateral. Enquanto alguns pacientes não desenvolvem a MO, outros desenvolvem a doença e padecem devido a seus efeitos colaterais (VILLA; SONIS, 2015).

Ainda é difícil prever se o paciente em tratamento antineoplásico irá ou não desenvolver a MO apenas em decorrência das drogas administradas já que vários antineoplásicos, como no caso do 5-FU (5-Fluorouracil), possuem maior propensão a lesar a mucosa bucal (McCARTHY et al., 1998). Fatores como idade, sexo, predisposição genética, saúde oral e tipo de higiene deficitária, microbiota bucal, disfunção salivar, tipo de alimentação, uso de tabaco, álcool e morbidades aumentam a probabilidade de desenvolvimento da MO, como também podem potencializar o seu desenvolvimento (CHENG, 2008).

Importante salientar que a frequência da MO é muito maior em crianças do que em adultos e isto se deve à alta taxa de proliferação celular da camada basal tornando-os mais vulneráveis aos fármacos antineoplásicos (SONIS, 1998; OWLIA; KAZEMEINI; GHOLAMI, 2012; QUTOB et al., 2012).

Sonis (2009) e Ruiz-Esquide et al. (2011) afirmaram que a idade, massa corporal e sexo foram identificados como possíveis fatores de risco para os pacientes. Da mesma

forma, os fatores genéticos podem exercer um papel dominante na determinação do risco da mucosite.

2.1.3 - Curso clínico da mucosite oral

De acordo com Sonis e Villa (2018), a fisiopatologia da MO pode ser considerada previsível, complexa e multifatorial já que uma série de eventos biológicos ocorrem na submucosa e no epitélio. Sabe-se que, nos pacientes que receberam quimioterapia ou fracionamento das doses, os primeiros sinais, geralmente, começam aproximadamente no 3º ou 4º dias após a infusão medicamentosa e a formação da úlcera começa poucos dias depois. Logo após, inicia-se a intensidade dos picos da mucosite entre os dias 7 e 14 havendo a remissão espontânea das lesões na semana subsequente. Pacientes que recebem quimioterapia concomitante (cisplatina ou carboplatina associada à radiação) são considerados mais propensos ao desenvolvimento de lesões. Quando há necessidade deste protocolo, estes pacientes desenvolvem eritema e dor na mucosa bucal até o final da primeira semana. Nestes casos, os pacientes relatam sensibilidade na mucosa podendo chegar à sensação de queimadura. Na segunda semana de tratamento pode haver ruptura do tecido epitelial da mucosa expondo o tecido conjuntivo e, clinicamente, observa-se a formação de lesões ulcerativas mais difusas, dolorosas e sem continuidade, devido à radiação que se acumula. Durante todo o tratamento antineoplásico (radioterapia e/ou quimioterapia), pode-se observar a presença de lesões ulcerativas até sua remissão, espontânea ou não, entre 2 a 4 semanas após a conclusão da terapia.

O desenvolvimento do ciclo que leva à MO pode ser considerado o mesmo em animais e pacientes que recebem tratamento antineoplásico (quimioterapia e radioterapia ou quimio/radiação concomitante) através de uma classificação clínica (AHMED; SELIM; EL-SAYED, 2017).

Clinicamente, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a MO é classificada em quatro graus (STONE; FLIEDNER; SMITE, 2005; SPEZIA, 2016; AHMED; SELIM; EL-SAYED, 2017; SONIS; VILLA, 2018):

Grau 0 - Ausência de lesão;

Grau 1 - Grau leve: a mucosa bucal começa a apresentar áreas eritematosas, sem presença de úlceras;

Grau 2 - Grau moderado: a mucosa bucal já apresenta, além de áreas

eritematosas, lesões ulcerativas, porém o paciente ainda consegue se alimentar com alimentos sólidos;

Grau 3 – Grau grave: com presença de áreas com lesões ulcerativas. Nesta fase o paciente relata dor, dificuldades em se alimentar e consegue ingerir apenas líquidos;

Grau 4 – Grau severo: quando o paciente já não consegue mais se alimentar com alimentos sólidos, ingerindo apenas líquidos, relata dor aguda, com presença de várias áreas com lesões ulcerativas e necessitando de nutrição enteral ou parenteral.

Inúmeras pesquisas explicam a história natural da MO em uma sequência de mecanismos, descrevendo sua patogênese ou fases biológicas em cinco fases ou etapas (Figura 2).

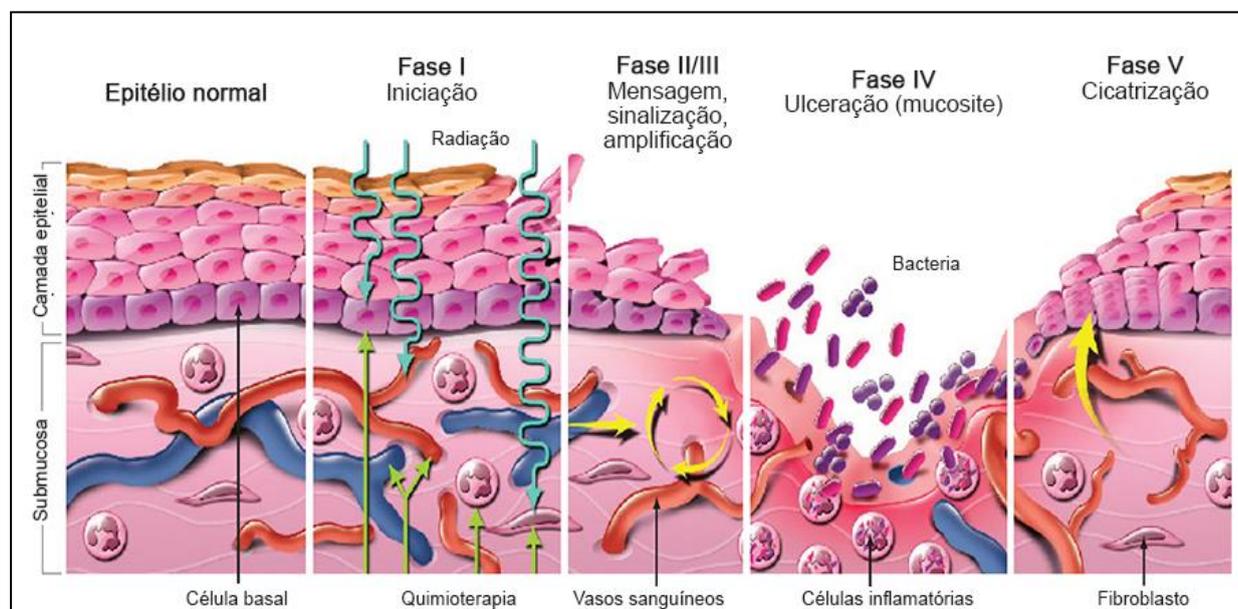


Figura 2: Desenho representativo das fases da fisiopatologia da mucosite oral. Adaptado de Sonis ST, 2004.

Cada uma das fases sequenciais representam ações de citocinas e fatores de crescimento associados ao efeito das drogas quimioterápicas sobre o epitélio, à microbiota bucal e à condição geral do paciente (SONIS, 1994; ELTING et al., 2003; SONIS et al., 2004; SILVERMAN, 2007; VOLPATO et al., 2007; LALLA; SONIS; PETERSON, 2008; MEDEIROS et al., 2011; OWLIA; KAZEMEINI; GHOLAMI, 2012; ARAÚJO et al., 2015; LIMA et al., 2015; VILLA; SONIS, 2015; SPEZIA, 2015; AHMED; SELIM; EL-SAYED, 2017; CINAUSERO et al., 2017):

Fase 1 - Iniciação/vascular/inflamatória: é a mais bem documentada, especificamente por aqueles agentes que são conhecidos por impactar a divisão celular

do epitélio da mucosa bucal (aquelas drogas que promovem síntese de DNA), iniciando a indução ao dano celular que resulta na morte das células do epitélio basal. Importante salientar que os elementos que conduzem cada fase representam alvos intervencionais potenciais (SONIS et al., 2004). O início da mucosite é desencadeado pelo estresse oxidativo e a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), danos ao DNA e ativação do sistema imunológico de resposta inata. Esses eventos provocam danos às camadas epiteliais basais de submucosa e endotélio.

Fase 2 – Epitelial/ de super regulação/ de geração de sinais/ de ativação/ de resposta/ de dano/ de dano secundário primário: após a morte das células do epitélio basal, as células da submucosa são afetadas. Há a ativação de fatores de transcrição nuclear (NF-kappa β), em resposta aos fatores oxidativos, seguida de regulação gênica, resultando na produção e regulação de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina - 1 (IL-1), IL-6 e óxido nítrico (NO), o que leva à apoptose e danos teciduais.

Fase 3 – Amplificação de sinal: substâncias fornecem um *feedback* positivo impulsionando o processo apoptótico, amplificando a injúria da mucosa, devido ao aumento ainda maior do número e nível de sinais de ativação. As citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , não só geram lesões, mas também aumentam a atividade do NF-kappa β e da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK). Resulta em um ciclo contínuo de ampliação da lesão, que persiste, mesmo após a fase 1. Pouca sintomatologia é descrita nesta fase, porém todas estas alterações celulares ocorrem nas fases iniciais da MO.

Fase 4 – Ulceração ou fase microbiológica: esta fase é considerada o período mais significativamente sintomático. A destruição superficial do epitélio com exposição da lâmina própria leva à dissolução da barreira protetora entre meio externo e interno devido à citotoxicidade nas células primordiais na camada basal. Pode, ainda, ocorrer uma possível associação desta fase com quadro de neutropenia levando ao risco de bacteremia ou disseminação fúngica a partir de infecção secundária das úlceras por microrganismos oportunistas, como colonização de bactérias gram positivas e gram negativas. Essas bactérias liberam moléculas que podem estender o dano da mucosa por estimulação direta de macrófagos que liberam citocinas pró-inflamatórias.

Fase 5 - Cicatrização ou cura: a fase de cura é caracterizada pela remissão das lesões e, histopatologicamente, se associa à proliferação e diferenciação celular local. Os eventos finais culminam com o restabelecimento hemodinâmico periférico e controle da microbiota bucal. Novas moléculas mensageiras liberadas da matriz extracelular do epitélio migram e se diferenciam para formar um novo tecido. Estas moléculas promovem a migração de células sobre a superfície da úlcera, proliferam e se diferenciam em um tipo especializado de mucosa do epitélio. Uma vez que a superfície da úlcera é coberta por este novo epitélio, o tecido se recompõe para formar camadas com uma nova arquitetura. O tempo de evolução desta fase depende do estado sistêmico do paciente, restaurando a integridade do epitélio.

Pode-se resumir a etiologia da doença como um desequilíbrio entre a proliferação e a perda celular que produz uma redução das células epiteliais, resultando em um epitélio com menor espessura, o que se manifesta como MO (GOMES et al., 2009).

2.1.4 – Características clínicas da mucosite oral

As lesões eritematosas e ulcerativas localizadas na mucosa bucal causadas pelo uso de fármacos estomatotóxicos produzem não só dor exarcerbada – sintomatologia extremamente dolorosa, causando transtornos alimentares - como também a diminuição do apetite, redução drástica na ingestão de alimentos e líquidos, levando à perda de peso corporal, com conseqüente desnutrição e, até mesmo, dificuldades de comunicação verbal (KANAGALINGAM et al., 2018; SHIMAMURA et al., 2018).

O tratamento antineoplásico impacta negativamente em vários aspectos da vida cotidiana de um paciente, tanto no que se refere à parte emocional como física. O principal efeito colateral descrito da MO é o aparecimento de lesões eritematosas e ulcerativas localizadas na mucosa bucal causadas pelo uso de fármacos estomatotóxicos, gerando sintomatologia altamente dolorosa, com associação a sangramento espontâneo impedindo a alimentação rotineira e, eventualmente, conduzindo o paciente à caquexia, sangramento, disfagia (dificuldade de deglutição) com alimentos sólidos e líquidos, disartria (dificuldade de articulação da fala) e odinofagia (dor durante a deglutição dos alimentos). Além disso, servem de porta de entrada para infecções oportunistas e patologias orais, uma vez que causam a perda da integridade da mucosa. Clinicamente, as lesões podem ser eritematosas, edemaciadas ou

ulcerativas, apresentando alterações que vão desde sensação de queimação leve a grandes úlceras dolorosas (LIMA et al., 2015; SPEZZIA, 2015; HITOMI et al., 2017; DOGAN, CAN, MEREAL, 2017; KANAGALINGAM et al., 2018).

2.1.5 - Tratamento da mucosite oral

Durante longo período de tempo, a grande maioria dos regimes terapêuticos não realizava intervenções na MO. Posteriormente, estas intervenções foram instaladas, essencialmente, de forma paliativa. No entanto, faz-se necessário um protocolo padronizado de tratamento e medidas preventivas, uma vez que muitos regimes terapêuticos não possuem sua eficácia estabelecida (ROBINSON, 2008; CAMPOS et al., 2014; SPEZIA, 2015).

Melhorar a condição nutricional, aumentar a hidratação e atentar-se para a melhora da qualidade de vida dos pacientes afetados são imprescindíveis. Além disso, a prevenção e o controle são fundamentais para um bom prognóstico oncológico de modo a se evitar o fracionamento das doses antineoplásicas e, até mesmo, a interrupção parcial ou permanente do protocolo oncológico previamente estabelecido (CAMPOS, et al., 2014).

Quando se desenvolve a MO com presença de sintomatologia dolorosa, os pacientes não conseguem se alimentar com alimentos sólidos causando, em muitos casos, a interrupção momentânea do tratamento. Para que não haja interrupção do tratamento antineoplásico, uma opção para a melhora na alimentação é a nutrição por meio de sondas enteral e nasogástricas além de ajustes e limitações nas doses do quimioterápico. Por outro lado, pode estender a continuidade e aumento do custo financeiro do tratamento e internação hospitalar, o que pode impactar negativamente no resultado do tratamento quimioterápico do paciente (KANAGALINGAM et al., 2018; SONIS; VILLA, 2018).

De acordo com Cinaucero et al. (2017), evidências de estudos clínicos são limitados. Porém, há diretrizes que sugerem estratégias potenciais de terapias alternativas para o tratamento da MO já instalada, entretanto estas terapias não previnem seu surgimento, mas auxiliam na diminuição da dor e sua severidade. Dentre elas destacam-se:

2.1.5.1 – Terapia bucal

A higiene oral é uma estratégia de prevenção que reduz o desenvolvimento de microrganismos que colonizam as lesões orais e exacerbam a severidade da MO, permitindo a eliminação de fatores de infecção. A literatura apresenta controvérsias, contudo já é de conhecimento clínico que a higiene oral reduz a quantidade de microrganismos e, conseqüentemente, a severidade da MO, diminuindo o risco de bacteremia. Além disso, a higiene oral é fundamental para se evitar possíveis fontes de infecções, bem como para prevenir complicações mais graves (ALBUQUERQUE; CAMARGO, 2007; CINAUCERO et al., 2017).

De acordo com Peterson (2006), Campos et al. (2015) e Cinaucero et al. (2017), a saúde bucal inicia-se antes da terapia antineoplásica devendo continuar até o fim do tratamento, pois impactam diretamente no curso clínico da MO. Devem ser adotados protocolos de cuidados bucais que devem incluir exames orais antes de se iniciar o tratamento quimioterápico/radioterápico, eliminando fatores de irritação da mucosa, doenças periodontais e tratamento de lesões cariosas. O paciente deve ser orientado sobre a importância da higiene oral, realizando-a com frequência, pois, quando feita de forma adequada, ajuda a reduzir a carga bacteriana e, conseqüentemente, o risco de infecções.

A terapia bucal ideal inclui padrões diários de higiene, cuidados dentários, bochechos com solução salina e bicarbonato de sódio, objetivando a redução da quantidade de microrganismos, auxiliando na diminuição da probabilidade de aparecimento de infecções secundárias, o que levaria a uma infecção das lesões presentes na boca. (KEEFE et al., 2007; MEDEIROS et al., 2011; OWLIA; KAZEMEINI; GHOLAMI, 2012; CINAUCERO et al., 2017).

Há pesquisas que afirmam que pacientes orientados a melhorar a higiene oral uma semana antes do início do tratamento antineoplásico através do uso contínuo do fio dental, escovação de forma correta após as refeições e, principalmente, antes de dormir, revisão das restaurações e próteses, realização de tratamento das lesões cariosas, melhora da higienização das próteses removíveis e manutenção das que não se encontram adequadamente adaptadas na cavidade bucal têm menos chance de desenvolver MO (OWLIA; KAZEMEINI; GHOLAMI, 2012; SPEZIA, 2015).

A descontaminação bucal através de uma higiene contínua reduz a infecção na cavidade bucal que são causados por patógenos considerados oportunistas e,

posteriormente, diminuirá os riscos de infecção sistêmica provocada por patógenos oportunistas ou residentes na cavidade bucal (CAMPOS et al., 2014).

2.1.5.2 – Glutamina

Trata-se de um aminoácido que envolve a síntese de glutathione que age através da exibição de propriedades antioxidantes, particularmente acelerando a remodelação da mucosa (TSUJIMOTO et al., 2015).

O efeito protetor da glutamina pode ser explicado pela redução da produção de citocinas pró-inflamatórias e, também, por aumentar a síntese de componentes cicatrizantes como o colágeno (PETERSON; JONES; PETIT, 2007).

A aplicação de hidrogel à base de L-Glutamina foi o medicamento escolhido por Jain, Keservani e Dahima (2010), em sua pesquisa. Os autores relataram que a MO mostrou-se menos severa quando comparada ao grupo tratado com clorexidina.

2.1.6 - Inibidores de produção de inflamação e citocinas

2.1.6.1 - Benzidamina

Trata-se de um agente anti-inflamatório não esteroide de uso oral sendo seu efeito possível devido à inibição da produção e do efeito pró-inflamatório de citocinas, tais como o TNF- α . Além disso, foi demonstrado que apresenta em sua composição propriedades anestésicas, analgésicas e antimicrobianas (RUBENSTEIN et al., 2004; SHEIBANI et al., 2015).

Em vista da complexidade da MO devido à sua toxicidade, não há padronização para prevenção ou tratamento da mesma. Este agente anti-inflamatório vem sendo utilizado em forma de bochechos no Hospital Universitário de Ribeirão Preto, onde membros do hospital o denominam de “fórmula mágica” para o tratamento clínico das manifestações da mucosite, sendo elas dor, eritema e ulceração (SHEIBANI et al., 2015).

2.1.6.2 – Pentoxifilina

A eficácia da Pentoxifilina (PTX) é apresentada em estudos para o tratamento de aftas orais e genitais recorrentes, entretanto, esta droga tem sido mais empregada por reumatologistas para tratamento da doença de Behçet já que reduz a severidade e duração dos sintomas. Embora estes efeitos benéficos possam ser devido às propriedades anti-TNF- α , a PTX pode ser utilizada como uma modalidade preventiva para eventos trombóticos, os quais estão entre as características das doenças ulcerativas (THORNHILL et al., 2007).

Para Campos et al. (2015), a PTX interfere no desenvolvimento da mucosite devido à sua atividade anti-TNF- α . E, de acordo com Cinaucero et al. (2017), ela desempenha um papel importante na modulação da inflamação, inibindo citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1- β , TNF- α e NF-kappa β . Não há evidências científicas que apoiem seu uso na prática clínica.

Embora as citocinas pró-inflamatórias pareçam ser um alvo desejável para a prevenção e tratamento da mucosite, os dados clínicos de seu uso ainda necessitam de mais ensaios clínicos experimentais (CAMPOS et al., 2015).

Lima et al. (2015) afirmaram que a PTX reduz a síntese de TNF- α por inibição da transcrição de seu gene e modula a síntese de outras citocinas como IL-1, IL-6, IL-8 e TGF- β (Fator de transformação de crescimento beta). O efeito protetor desta droga pode explicar sua capacidade de inibir a produção das citocinas inflamatórias ou estimular a produção de citocinas antiinflamatórias.

2.1.6.3 - Palifermina

De acordo com Rubin et al (1998), a palifermina é um fator de crescimento de queratinócitos humano recombinante -1 (KGF-1), que pertence à família dos fatores de crescimento de fibroblastos (FGF's) e que estimula a proliferação e a diferenciação de células epiteliais.

Ainda, de acordo com Ferreira et al. (2012), em pesquisas realizadas, a palifermina mostrou papel defensivo em vários tecidos epiteliais.

Villa e Sonis (2015) afirmaram que este fármaco apresenta propriedades pleotrópicas, antiapoptótica, antioxidante, atividade anti e pró-inflamatória. A infusão

intravenosa de KGF-1 impactou, com sucesso, o curso da gravidade da MO em pacientes que receberam tratamento estomatotóxico agressivo.

A palifermina foi, posteriormente, aprovada pela FDA (Food and Drugs Administration) e EMA (European Medicine Agency) para uso restrito a pacientes portadores de MO (SPIELBERG et al., 2004; STIFF et al., 2007; CAMPOS et al., 2015).

2.1.7 - Estratégias Físicas

2.1.7.1 - Crioterapia oral

Campos et al. (2015) citaram em sua pesquisa vários estudos que fornecem evidências para o benefício da crioterapia na modulação da MO. Seu uso se dá através da dissolução de pequenos cubos de gelo na boca, podendo ser empregado cubos de gelo à base de chá calmante, como a camomila.

Estudos realizados por Riley et al (2015) concluíram que a crioterapia oral reduz a gravidade da MO em pacientes submetidos a tratamento antineoplásifco com 5-FU. Acredita-se que o benefício da crioterapia seria devido à vasoconstrição local.

2.1.7.2 - Terapia a laser (Fotobiomodulação)

A utilização do laser de baixa intensidade foi proposta por Damante, Marques e De Micheli (2008) para a cicatrização de feridas uma vez que, quando utilizado como agentes terapêuticos, apresentam propriedades antiinflamatórias e analgésicas, além da cicatrização de feridas, proporcionando mais conforto ao paciente e redução do uso de medicamentos.

A conclusão dos trabalhos de Fekrazad e Chinifourush (2014) mostrou a laserterapia como uma forma segura de prevenir, tratar e diminuir a severidade da MO uma vez que aumenta a produção de ATP (adenosina trifosfato) intracelular aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Este aumento resulta em proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno, mudança na resposta inflamatória, bem como uma maior motivação da angiogênese e reparo tecidual.

Vários estudos sugerem que o tratamento da mucosa com um laser de nível baixo de hélio-neon (LLLT) reduz a gravidade da mucosite e promove cura mais rápida em pacientes submetidos à terapia de condicionamento para o transplante de células tronco

hematopoiéticas (SCHUBERT; EPSTEIN; PETERSON, 2000; BARASCH; EPSTEIN, 2011; FERREIRA et al., 2012; CAMPOS et al., 2015).

Para Cinaucero et al. (2017), há uma quantidade significativa de dados documentando as atividades biológicas da LLLT. Acredita-se que o laser reduz os níveis de citocinas pró-inflamatórias e diminui os níveis das ROS.

2.1.8 - Gerenciamento de dor

Para Lalla et al. (2014), a gestão da dor desempenha um papel crucial na melhora gradual da qualidade de vida do paciente submetido à quimioterapia e radioterapia com desenvolvimento da MO. Em seu estudo, sugeriram a prescrição de morfina para analgesia em pacientes com dor intensa causada pela MO. Ainda, de acordo com os autores, até o momento, a analgesia com a morfina é recomendada apenas no tratamento da MO em paciente hematológico com dor intensa. Enxaguatórios bucais à base de morfina como transdermal, fentanil e doxepina são outras opções possíveis em vários contextos clínicos. Tapentadol, gabapentina e pregabalina são fármacos que ainda estão sendo realizados estudos clínicos para sua aplicação.

Resultados da pesquisa de Rugo et al. (2016) sugerem que colutórios à base de dexametasona apresentam benefício em seu uso. Porém, têm como alvo a inflamação secundária na fase dessas lesões.

Robsinson (2008) sugeriu uma mistura para bochechos como forma de prevenção que deve ser usada tanto pelos pacientes portadores de MO quanto por aqueles que ainda não apresentaram manifestações da doença. A mistura contém um litro de solução salina 0,9%, três colheres de chá de bicarbonato de sódio em pó e 60 a 100mL de lidocaína 2%. O bochecho deve ser feito por um minuto, de duas em duas horas.

Chaveli-López e Bagán-Sebastián (2016) descreveram que as modalidades terapêuticas podem ser realizadas por agentes farmacológicos ou não farmacológicos podendo ser utilizados outros compostos como os anestésicos tópicos citando a lidocaína como exemplo. Todavia, a lidocaína fornece alívio a curto prazo. Um agente muco aderente a outros agentes, tais como antimicóticos, esteróides ou antibióticos também podem ser usados como paliativos em casos de dor ou infecções.

O estudo de Allisson (2014) mostrou benefício paliativo de vários agentes de aplicação tópica, que estão atualmente disponíveis, incluindo GelClair[®], Episil[®] e MuGard[®].

2.1.9 - Outras abordagens

2.1.9.1 - Remédios naturais

Inúmeros estudos vêm sendo desenvolvidos nos últimos anos para determinar o potencial preventivo ou terapêutico de alguns fármacos naturais como Vitamina A, ácido ascórbico, mel de manuka, aloe vera, camomila e óleo de copaíba, dentre outros extratos vegetais. Estes são apenas alguns exemplos de uma abordagem emergente que estão conquistando a aceitação da população por estarem relacionadas à melhora da cicatrização sem oferecer toxicidade, nem interação com outras medicações. Destaca-se a camomila, por possuir ação antiinflamatória, antimicrobiana e propriedades cicatrizantes, auxiliando no tratamento das lesões bucais apresentadas pelo paciente (CAMPOS et al., 2014; YUAN; SONIS, 2014; VAN SEBILLE et al., 2015).

Em 2017, Hitomi e seus colaboradores sugeriram o uso de gingerol, à base de um extrato de gengibre processado, que desempenha um papel essencial na analgesia associada à dor induzida por MO. Este mecanismo farmacológico fornece evidências científicas que apoiam o uso desse medicamento em pacientes que sofrem de dor induzida por MO.

2.2 – Terapias antineoplásicas

2.2.1 - Radioterapia

De acordo com Lima et al. (2015), a radioterapia é um tratamento que consiste na utilização de radiação ionizante. A radiação é emitida e direcionada ao local a ser tratado e é considerada um tipo de energia com o objetivo de destruir ou impedir que as células oriundas do tumor aumentem. É um meio eficaz capaz de impedir o contínuo desenvolvimento das neoplasias malignas.

Altas doses de radiação em grandes áreas, incluindo a cavidade bucal, maxila, mandíbula e glândulas salivares podem resultar em diversas reações. Mucosite oral, candidíase, disfagia, cárie de radiação, osteorradionecrose, necrose do tecido mole e xerostomia estão entre as várias complicações deste tipo de terapia (JHAM; FREIRE, 2006; OWLIA; KAZEMEINI; GHOLAMI, 2012).

Pode ser usada em combinação, ou seja, concomitante com a quimioterapia. Os efeitos colaterais da radioterapia dependem da dose do tratamento, do volume e do local onde será irradiado, assim como da idade e das condições clínicas do paciente. Podem ocorrer reações agudas durante o tratamento e, em geral, são reversíveis. Há, ainda, complicações tardias comumente irreversíveis e em diversas intensidades. O tratamento é direcionado a determinada área do organismo e é indolor durante sua aplicação (INCA, 2019).

Trotti et al. (2000) e Sonis (2013) destacaram que os pacientes que estão sendo irradiados para tratamento de câncer na região de cabeça e pescoço são de alto risco para o desenvolvimento da MO. Em pacientes tratados com radioterapia a mucosite é considerada o efeito colateral agudo mais importante na cavidade bucal. De fato, cerca de dois terços desenvolverão formas graves da doença. A incidência salta para perto de 100% quando a irradiação se dá em cabeça e pescoço. A adição de quimioterapia à radioterapia onde o medicamento mais utilizado é a cisplatina, também aumenta o risco de MO.

Sanguineti et al. (2012) mostraram que pacientes com câncer e que receberam irradiação aumentaram espontaneamente o desenvolvimento de MO. Segundo estes autores, tanto a incidência quanto a duração da MO são aumentadas com a adição de quimioterapia a um padrão de radioterapia quando comparado ao de quimioterapia isolado.

Para Brunner et al. (2016), a radiação induz danos diretos e indiretos. Em observação de pacientes em tratamento para câncer, os mesmos podem, também, desenvolver mucosite gastrointestinal iniciando por uma esofagite. Alguns pacientes podem necessitar de tubo de alimentação e/ou interrupções do tratamento. Além disso, danos nesse nível podem levar à uma grande infecção e disfagia ou odinofagia, menor ingestão alimentar, caquexia e, conseqüentemente, um pior prognóstico.

Villa e Sonis (2015) descreveram que, no caso de radiação, a sinalização de dano no tecido celular acontece dentro de poucos segundos de exposição. Sintomas associados à atrofia, como queima e dor moderada, começam assim que ocorre o fim da primeira semana de tratamento. A ulceração é observada entre a segunda e a terceira semanas de tratamento e torna-se contínuo e extremamente doloroso (de modo a limitar a função) devido às doses de radiação cumulativas. As lesões persistem por até seis semanas após a conclusão da radioterapia.

2.2.2 - Quimioterapia

Entende-se por quimioterapia o conjunto de medicamentos utilizado para o tratamento antineoplásico. Estes medicamentos se misturam com o sangue e são levados a todas as partes do corpo humano, destruindo células cancerígenas que estão formando o tumor e impedindo sua proliferação até outros tecidos, a metástase. Pode ser administrado via oral, intramuscular, subcutânea ou por infusão (INCA, 2019).

Para Villa e Sonis (2015), as taxas de início e gravidade da lesão da mucosa dependem do tipo de quimioterapia utilizada. Os agentes quimioterápicos variam na sua mucotoxicidade. Os antimetabólitos, isto é, 5-FU e metotrexato, irinotecano, agentes alquilantes como ciclofosfamida e cisplatina, antraciclinas e taxanos, tendem a ser mais consistentemente associados à toxicidade das mucosas que a bleomicina, hidroxiureia ou etoposido. Além disso, a infusão tende a ser mais tóxica.

O efeito citotóxico dos quimioterápicos sobre a mucosa bucal é discreto nos primeiros dias de tratamento, tornando-se gradualmente mais severo a partir do fim da primeira semana (geralmente por volta de 7 a 10 dias); após duas semanas do final do tratamento há remissão das lesões bucais (DIAS, 2010; BARASCH; EPSTEIN; 2011).

A utilização dos quimioterápicos contra as neoplasias malignas consiste em erradicar as células tumorais sem lesar os tecidos normais do paciente. Para isto, contudo, é necessário que o tumor seja sensível aos medicamentos antineoplásicos, que os locais onde estão inseridos os tumores recebam concentrações adequadas de drogas ativas por um período de tempo suficiente e que as células do hospedeiro sejam resistentes aos efeitos nocivos que as mesmas drogas causam (MARTINS; CAÇADOR; GAETI, 2002; GALVÃO; CASTRO; CONSOLARO, 2006).

2.2.2.1 - Fármacos (tratamentos) antineoplásicos

Houve um grande avanço nas últimas décadas em relação aos fatores relacionados ao tratamento anticâncer. É nítido que, nas últimas décadas, o papel dos fármacos no combate ao câncer expandiu de uma maneira avassaladora. Estes agentes são capazes de curar diversos tumores avançados sendo o tratamento de escolha contra as neoplasias malignas disseminadas, para as quais o tratamento cirúrgico não está indicado ou por estarem localizados fora dos limites da radioterapia. Estes medicamentos (actimicina D, daunorubicina e daunomicina, adriamicina, 5-FU, bleomicina, citosina,

arabinosida e metotrexato), são utilizados também como auxiliares nos casos cirúrgicos ou por radioterapia em casos de prevenção de metástases de tumores primários tratados no local (CALABRESE; CHABNER, 2003; GALVÃO; CASTRO; CONSOLARO, 2006; CINAUSERO et al., 2017).

Dentre estes fármacos estão os quimioterápicos tradicionais, ou seja, agentes alquilantes, antimetabólitos, antibióticos, esteroides, alcalóides vegetais, dentre outros, que são considerados modificadores das respostas biológicas e os agentes que são utilizados especificamente como protetores dos efeitos tóxicos causados por estes próprios fármacos (KNOX; PUODZIUNAS; FELD, 2000).

Drogas antineoplásicas destroem ou comprometem as células tumorais ou, ainda, atuam na inibição da duplicação do DNA sendo mais eficazes contra as células em rápida divisão celular (CALABRESE; CHABNER, 2003).

Os medicamentos antimetabólitos exercem seus principais efeitos durante a fase S (síntese de DNA) do ciclo celular. Dessa forma, interferem no crescimento das células do organismo que são de rápida proliferação. Entre estas células estão: células da medula óssea, folículos pilosos, células do revestimento do trato gastrointestinal e as células germinativas. Existem três classes de medicamentos antimetabólitos: os análogos do ácido fólico, os análogos da purina e os análogos da pirimidina (KWOK; SCHUBERT; FELD, 2000).

O 5-FU, um análogo da pirimidina, destaca-se entre todos os fármacos utilizados por apresentar uma grande diversidade de uso terapêutico, entretanto apresenta variados efeitos colaterais (LIMA et al. 2004).

2.2.2.1.1 - 5-fluorouracil (5-FU)

Conhecido como 5-FU, o 5-Fluorouracil é um quimioterápico bem estabelecido e, por muito tempo, tem sido utilizado para o tratamento de uma variedade de diferentes tipos de câncer, incluindo mama, colorretal e pele, mas também é um tratamento alternativo para pacientes com câncer de cabeça e pescoço, metastático ou recorrente (CAMPOS et al., 2015; SOUGIANNIS et al., 2019).

O 5-FU é uma pirimidina fluorada, análogo do uracil, que penetra facilmente nas células. É convertido em vários metabólitos ativos que são incorporados em macromoléculas como DNA e RNA, inibindo suas funções normais (WALLADBEGI et al., 2018).

Sua preparação se dá a partir da substituição de um átomo de hidrogênio por outro mais estável de flúor na posição “5” da molécula de uracil. Este sítio específico de substituição no anel pirimidina foi selecionado porque ele pode inibir a subsequente conversão do nucleotídeo uracil em nucleotídeo timina (PINEDO; PETERS,1988).

Este fármaco é administrado por via intravenosa, na forma de bólus ou como infusão contínua prolongada por alguns dias, durante um período de vários meses. Sua meia-vida é curta, de 10 a 20 minutos e, como atua na fase S do ciclo celular, oferece maior oportunidade para as células que não se encontram nesta fase passarem para uma fase mais sensível (ALLEGRA; GREM,1997).

Devido aos seus efeitos primários serem exercidos nos tecidos de rápida divisão celular, seus efeitos adversos podem ser fatais, sendo descrita a ocorrência de isquemia do miocárdio causada por espasmos da artéria coronária (McCARTHY et al., 1998; STRINGER, 2013).

Vários tipos de toxicidades estão associados à utilização deste fármaco, como anorexia, vômitos, mucosite e diarreia, que variam consideravelmente de acordo com a dosagem utilizada, o esquema adotado e a via de administração (PIZZORNO et al., 2000).

Segundo Lara, Guerra e Melo (2007), o 5-FU, em contraste com o metotrexato, promove uma citotoxicidade, mas não compromete os indivíduos sistemicamente, permitindo a visualização de úlceras, sem maior morbidade. Apesar da indução de apoptose, o tratamento com esta droga induz alterações nos queratinócitos, que são compatíveis com a degeneração autofágica.

O modelo animal de mucosite induzido por 5-FU em ratos permite a visualização das fases da MO (SONIS, 2004). Para Lara, Guerra e Melo (2007), o modelo animal de mucosite induzida pelo quimioterápico 5-FU pode ser usado para estudos de MO, especialmente no que se refere à prevenção e tratamento de sequelas.

Acredita-se que o dano celular provém de uma cascata de eventos que ocorrem no subepitélio subjacente. Subsequente ativação de fatores de transcrição e liberação de várias citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-6 e TNF- α , leva a um comprometimento da mucosa (STRINGER, 2013; WALLADBEGI et al., 2018).

Os efeitos tóxicos das injeções intravenosas de 5-FU podem resultar na mielosupressão, principalmente leucopenia, seguida de trombocitopenia e anemia. Pode-se verificar também alopecia, dermatite, pigmentação aumentada, atrofia da pele e mucosa (WALLADBEGI et al., 2018).

2.3 - Leucometria

Laboratorialmente, o organismo humano conta com cerca de 4.000 a 10.000 leucócitos por mm^3 de sangue periférico. Quando tal parâmetro bioquímico está alterado, temos a instalação de leucocitose (quantidade que excede ao normal) ou leucopenia (quantidade inferior àqueles valores considerados normais); quanto mais grave a leucopenia, maior a chance de instalação de infecção secundária, influenciando diretamente a continuidade do tratamento quimioterápico e levando a possíveis complicações da defesa imunológica tumoral (MEHTA; MALIK, 2006).

Diversos autores consideram a leucopenia secundária à quimioterapia como uma das principais causas de descontinuidade do tratamento antineoplásico ressaltando, assim, a necessidade de monitoramento da imunocompetência por hemograma completo durante a realização da terapia (SONIS, 1998; LIMA et al., 2004; SONIS, 2010; CAMPOS et al., 2015).

Segundo Liu, Zhang e Li (2013), a quimioterapia é o tratamento padrão para câncer e a leucopenia é o efeito colateral mais comum, estando relacionada diretamente com a sobrevivência do paciente.

Diversos estudos abordam a influência da quimioterapia experimental induzida sobre a contagem total de leucócitos e estabelecimento da caquexia (LILLIE; TEMPLE; FLORENCE, 1996; RUIZ-ESQUIDE et al., 2011; ALVARIÑO-MARTIN; SARRIÓN-PEREZ, 2014; FEKRAZAD; CHINIFORUSH, 2014; CAMPOS et al., 2015). Por outro lado, a prevenção da leucopenia à quimioterapia induzida foi, até então, abordada por poucos pesquisadores (ALLE; ALLE FILHO; MARCHESANO, 1988; RUIZ-ESQUIDE et al., 2011).

Contudo, dadas as consequências sistêmicas da quimioterapia e seu efeito negativo sobre a mielopoiese, destaca-se a necessidade cada vez maior do estabelecimento de protocolos preventivos modulatórios de subpopulações de linfócitos T e do sistema fagocitário mononuclear, devido ao conhecido perfil de citocinas produzidos por tais células, sabidamente indutores de caquexia, favorecendo, assim, a continuidade do tratamento antineoplásico (WARDILL; BOWEN; GIBSON, 2014).

2.4 – Atorvastatina

As estatinas foram descritas pela primeira vez na literatura em 1976 como o primeiro inibidor da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductase (HMG-CoA), sendo a mevastatina o primeiro fármaco comercializado, que representa a primeira estatina descrita, originalmente isolada como produto metabólito de culturas *Penicillium citrinium* (CHAN; OZA; SIU, 2003).

A inflamação representa uma complexa mobilização dos sistemas de defesa celular e humoral do organismo, com participação vascular, neural e hormonal, desencadeada por estímulos físicos, químicos ou biológicos. Os medicamentos atualmente disponíveis na prática médica, como anti-inflamatórios não esteroidais, anti-histamínicos, glicocorticóides e imunossupressores, estão muito longe de tratar com eficácia processos inflamatórios crônicos (CAMPOS et al., 2015).

Este é um dos motivos pelo quais a indústria farmacêutica vem estudando novas alternativas para o tratamento de patologias que acometem a pele, bem como novos alvos terapêuticos e novas entidades químicas. Devido à grande dificuldade de desenvolvimento de novas moléculas com atividade biológica, a tentativa de utilizar medicamentos já conhecidos para novas indicações terapêuticas tem sido um grande desafio para a medicina contemporânea. Um exemplo disso é a utilização de uma classe de medicamentos, as estatinas, com propriedades de realizar o bloqueio da conversão do substrato HMG-CoA em ácido mevalônico, inibindo, assim, os primeiros passos da biossíntese do colesterol. Representam agentes hipolipidêmicos mais usados devido à eficácia em reduzir os níveis de colesterol sanguíneo com excelência e segurança (RIDRUEJO et al., 2018).

Estão disponíveis para comercialização: atorvastatina, rosuvastatina, sinvastatina, fluvastatina, lovastatina, pitavastatina e pravastatina, sendo a atorvastatina o fármaco mais empregado (RIDRUEJO et al., 2018).

Diversos estudos reportaram o uso das estatinas como responsável por uma significativa diminuição nos níveis séricos de lipídeos, com resultados favoráveis à diminuição das doenças hemodinâmicas isquêmicas e cardíacas, em pacientes com arterosclerose em distúrbios cardiovasculares, além de seus efeitos sobre o nível de colesterol (ENDO, 1992; AZEVEDO et al., 2010; MEDEIROS et al., 2011; KOSE et al., 2014).

A atorvastatina é um agente redutor do colesterol derivado sinteticamente de um

produto de fermentação do *Aspergillus terreus*. Após sua ingestão, a forma lactona inativa é hidrolisada para o seu correspondente α -hidroácido. Este é o principal metabólito inibidor da HMG-CoA (LEA; McTAVISH, 1997; HE; TAN, 2013).

É indicada para pacientes com doença coronariana para redução do risco de morte e de infarto do miocárdio não fatal, redução do risco de acidente vascular cerebral (AVC) e de ataques isquêmicos transitórios (AIT), redução do risco de realização de procedimentos de revascularização do miocárdio (*bypass* da artéria coronariana ou angioplastia coronariana transluminal percutânea), redução da progressão da arteriosclerose coronariana, incluindo a redução do desenvolvimento de novas lesões e de novas oclusões totais (AZEVEDO et al., 2010; LIU et al., 2014).

Outra indicação deste fármaco é para hipercolesterolemia: redução dos níveis elevados de colesterol total e triglicérides em pacientes com hipercolesterolemia primária ou hipercolesterolemia combinada (mista), quando a resposta à dieta e outras medicações não farmacológicas isoladamente tenham sido inadequadas (LEA; McTAVISH, 1997; AZEVEDO et al., 2010; HE; TAN, 2013).

A atorvastatina eleva o HDL-colesterol e, portanto, reduz a relação LDL/HDL - colesterol e a relação colesterol total/HDL. Também é indicada associada à dieta e à outras medidas não relacionadas à dieta para reduzir os níveis de colesterol total (LIU et al., 2014).

De acordo com Medeiros et al. (2011), os efeitos das estatinas incluem melhora da função endotelial pela regulação endotelial do óxido nítrico sintase (eNOS), diminuição da célula muscular lisa vascular (VSMC), proliferação de macrófagos, redução na atividade plaquetária, estabilização das placas de aterosclerose, propriedades antioxidantes e antiinflamatórias e efeitos imunomoduladores. Muitos desses efeitos pleiotrópicos são mediados pelo bloqueio da síntese de intermediários isoprenóides, com acúmulo de células inativas de proteínas de ligação com Trifosfato de Guanosina (GTP) no citoplasma.

Alguns pesquisadores mostraram que o NO e suas enzimas parecem exercer um papel benéfico no curso de doenças uma vez que consegue inibir o agravamento da inflamação (RUULS et al., 1996; OKUDA et al., 1998; PONOMAREV et al., 2007; KOSE et al., 2014).

Nos estudos de Seungjoon et al. (2000), foi demonstrado que o NO produzido tem um papel benéfico na remoção de células inflamatórias através do bloqueio da proliferação de células T e, eventualmente, por indução da apoptose de células

inflamatórias em pacientes portadores de encefalomielite autoimune.

Em um estudo realizado por Lauf, La Fata e Liao (1997), citado por Azevedo et al. (2010), mostrou que as estatinas atuam diretamente sobre o metabolismo do NO, potencializando sua ação reguladora. Este trabalho, considerado o passo inicial no estudo das funções das estatinas, demonstrou que a atorvastatina aumentou de 13 para 38 horas a vida média do RNAm que codifica o eNOS, demonstrando que as estatinas inibem significativamente a interação dos leucócitos.

Tratamento com estes fármacos reduz a inflamação vascular em pacientes, como evidenciado por redução significativa dos marcadores anti-inflamatórios. Foi sugerido que as citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 e IL-6 estão envolvidas na patogênese da MO após uso de quimioterápicos (AZEVEDO et al., 2010; MEDEIROS et al., 2011). Segundo estes pesquisadores, estas citocinas, bem como a IL-1, podem estar envolvidas na fase de amplificação da mucosite intestinal, uma vez que a inflamação pode ser a consequência funcional da barreira, isto é, com perda da integridade epitelial (atrofia e metabolismo protéico alterado) e proteção da mucosa alterada. Somado a isso, a má nutrição que é associada com câncer e quimioterapia é capaz de induzir mais citocina no intestino.

O uso de estatinas também está associado a um risco reduzido de progressão da fibrose em pacientes com hepatite C crônica e um risco reduzido de desenvolvimento de cirrose. Então, há um consenso benéfico do uso de estatinas em pacientes com doenças crônicas do fígado. Até agora foi provado que existem vários mecanismos ativados pelas estatinas no câncer, dependendo da linha celular, concentração de estatinas, duração da exposição e o tipo de estatina utilizado, demonstrando que as estatinas podem inibir a progressão do ciclo celular e pode induzir a apoptose tanto por fatores intrínsecos como extrínsecos. O TGF- β 1 está envolvido na regulação do comportamento celular em uma variedade de contextos celulares (RIDRUEJO et al., 2018).

2.5 - Modelo animal experimental para mucosite oral

Bowen, Gibson, Keefe (2011) afirmaram que a utilização de animais para estudo da MO tem fornecido extensas informações com relação aos mecanismos de instalação e terapêutica da doença.

Cardani et al. (2011), o modelo animal escolhido para estudo da MO é um importante passo no desenvolvimento experimental de novos fármacos e terapias.

Araújo et al. (2015), em seu estudo, demonstrou limitações no uso de hamsters, devido a diferenças genéticas com humanos e pela diferença na mucosa jugal.

Campos et al. (2015), em sua pesquisa de MO induzida por 5-FU utilizando ratos *Wistar*, observaram que estes animais apresentam características histopatológicas da cavidade bucal semelhantes à de humanos.

Para Shimamura et al. (2018), a pesquisa em modelos experimentais em animais para o desenvolvimento de novos fármacos para prevenir a MO é necessária e importante, pois ainda não há um tratamento ou protocolo eficaz.

Vieira, Nagato e Campos (2018), descreveram a utilização do rato *Wistar* para pesquisas de indução da MO. Quando estes animais são utilizados conseguem mimetizar as mesmas características clínicas da MO em humanos (áreas eritematosas, hiperemia, lesões ulcerativas menores a maiores), são de fácil manejo devido ao tamanho e de fácil obtenção.

3 - HIPÓTESE

A administração preventiva da atorvastatina, em dosages diferentes, pré-determinada é benéfica ao tratamento da mucosite oral induzida em ratos *wistar*, e também à manutenção do número de leucócitos e melhora do quadro de caquexia.

4 - OBJETIVOS

4.1- Objetivo Geral

Estudar o efeito da administração da atorvastatina, em dosagens diferentes, bem como determinar sua ação sobre o estabelecimento de lesões da mucosite oral induzida por quimioterapia na manutenção do número dos leucócitos e na caquexia.

4.2 - Objetivos Específicos

- Desenvolver um modelo de indução da mucosite oral, sem o emprego de anestésico para a etapa de escarificação das bochechas;
- Investigar o potencial preventivo da administração da atorvastatina na mucosite oral induzida por quimioterápico em ratos *Wistar*;
- Verificar qual a dosagem de atorvastatina é mais eficaz (1, 5 ou 10mg/kg/dia) para prevenção da MO;
- Avaliar o estado clínico dos animais após a quimioterapia com dosagens preventivas diferentes de atorvastatina (1, 5 e 10mg/kg/dia);
- Avaliar o efeito da atorvastatina sobre a caquexia após a indução da mucosite oral através do acompanhamento do consumo de ração e massa corporal;
- Avaliar o efeito da atorvastatina sobre o leucograma dos animais.

5 - MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 - Aspectos éticos

O projeto experimental foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado em 04 de julho de 2018 sob o número 005/2018.

5.2 - Animais de experimentação

Foram utilizados nesta pesquisa 36 ratos *Wistar (Rattus norvegicus)* (N = 36), machos, com seis a oito semanas de vida e peso corporal entre 180 e 250g.

Os mesmos foram obtidos e alojados no Biotério do Centro de Biologia da Reprodução (CBR) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). O biotério é provido de iluminação mista – luz natural e lâmpadas fluorescentes – sendo as últimas controladas automaticamente para acenderem às 6 horas e apagarem às 18 horas. Os animais foram mantidos em estantes climatizadas, três por gaiola, providas de camas de maravalha selecionada, mamadeira para água e cocho para ração do tipo peletizada. Os animais foram alimentados com ração e água *ad libitum*. Quinze dias antes do início da indução da mucosite oral, os animais foram separados aleatoriamente em cinco grupos:

- Grupo Controle – animais com mucosite quimioinduzida, que receberam solução salina ip (soro fisiológico – 0,5mL) (n = 9)
- Grupo I – animais com mucosite quimioinduzida tratados com atorvastatina ip 1mg (n = 9);
- Grupo II – animais com mucosite quimioinduzida tratados com atorvastatina ip 5mg (n = 9);
- Grupo III – animais com mucosite quimioinduzida tratados com atorvastatina ip 10mg (n = 9);

O desenvolvimento do modelo experimental foi conduzido no próprio biotério.

5.3 - Protocolo de administração medicamentosa

A atorvastatina foi manipulada especificamente para cada grupo, onde cada animal recebeu 0,5mL de 1, 5 ou 10mg/kg/dia, respectivamente, por injeção via intraperitoneal (ip), iniciando quinze dias antes do tratamento com 5-FU.

Quinze dias após o tratamento prévio com atorvastatina, os animais receberam a primeira e segunda dose do quimioterápico 5-Fluorouracil (dias 16 e 18) e estendendo-se até o final da escarificação das bochechas (dias 19 e 20) (SONIS, 2004; AZEVEDO et al., 2010; MEDEIROS et al., 2011; CAMPOS et al., 2015).

Os animais do Grupo Controle, receberam solução salina 0,9%, estéril, começando 15 dias antes da indução da mucosite. Os animais receberam injeções intraperitoneais contendo 0,5mL desta solução continuando até o final da escarificação das bochechas (dias 19 e 20) (Figura 3).

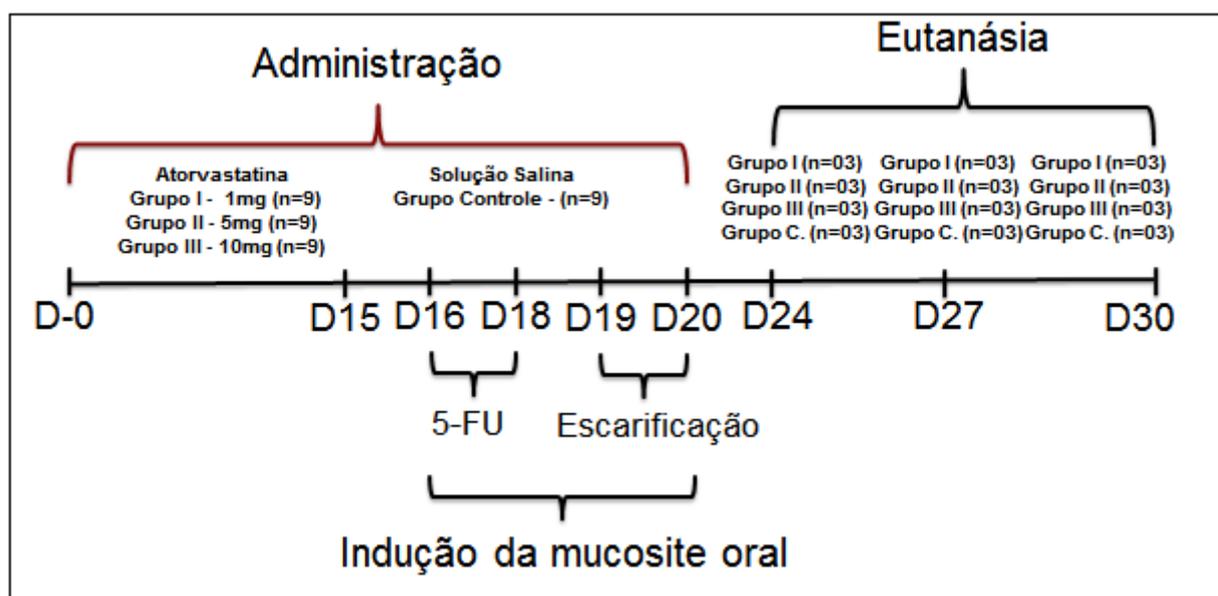


Figura 3 – Quadro de administração medicamentosa, indução da mucosite oral, escarificação e eutanásias.

5.4 - Indução da mucosite oral

A indução da MO, foi realizada em todos os animais, através da administração do quimioterápico 5-FU (Eurofarma, São Paulo, Brasil) via injeção intraperitoneal, no dia “16” (dose de 60mg/Kg) e no dia “18” (dose de 40 mg/Kg) do experimento (SONIS et al., 1990; MEDEIROS et al., 2011; CAMPOS et al., 2015).

Nos dias “17” e “18” as mucosas jugais dos animais sob contenção física, foram escarificadas, bilateralmente, com a ponta de uma agulha estéril, número 18 G (Gaulle), por duas vezes, com o intuito de simular o contato dos dentes com a mucosa. Todo o procedimento foi realizado pelo mesmo operador, sem uso de anestesia ou sedação (Figura 4).



Figura 4 – Fotografia demonstrando a escarificação realizada na mucosa jugal, com agulha, com o animal sob contenção física.

Os animais permaneceram por observação clínica de 2 horas, ou seja, ficaram em observação clínica pelo pesquisador e não foram submetidos à nenhuma intervenção neste período (SONIS et al.,1990; MEDEIROS et al., 2011; CAMPOS et al., 2015).

5.5 - Acompanhamento dos animais durante o tratamento

Para constatação do surgimento das lesões, as mucosas foram observadas clinicamente, onde os animais foram contidos fisicamente e as mucosas evertidas (VIEIRA; NAGATO; CAMPOS, 2018) e foram realizados anteriormente à eutanásia dos animais de modo a permitir uma comparação entre os grupos para comprovação da efetividade do medicamento.

Durante todo o período do experimento os animais foram monitorados diariamente por meio de mensuração do peso corporal e condição sistêmica de morbidade.

Da mesma forma, o consumo de ração foi anotado diariamente durante o experimento para avaliar a ingestão alimentar, crescente ou decrescente, dos animais.

Após a eutanásia, as regiões anatômicas da mucosa jugal foram evertidas de modo a facilitar a visualização das regiões afetadas.

5.6 - Obtenção das amostras e avaliação histopatológica

Nos dias “24”, “27” e “30”, três animais de cada grupo foram eutanasiados com sobredose anestésica de Quetamina e Xilazina e, logo após, realizou-se a remoção completa do sangue do animal por punção cardíaca (MEDEIROS et al., 2011; CAMPOS et al., 2015). Foi realizada a tricotomia para remoção dos pelos ao redor das bochechas e, posteriormente, procedeu-se à remoção excisional das mucosas jugais, para preparação do material histológico (Figura 5).



Figura 5 – Fotografia demonstrando a remoção excisional das bochechas

5.7- Técnica histológica

De acordo com Aarestrup (2012), o processamento histológico é realizado através de etapas onde as amostras de tecidos são preparadas com a finalidade de serem visualizados por microscopia óptica. A confecção da lâmina é resultado das seguintes etapas:

- Obtenção da amostra de tecido (coleta);
- Fixação e identificação da amostra;
- Clivagem;
- Desidratação;
- Diafanização;
- Impregnação e inclusão;
- Microtomia;
- Coloração;
- Montagem.

As lâminas histológicas foram analisadas em microscópio Zeiss® (Hallbergmoos, Alemanha) em aumentos de 50X, 100X e 400X, em toda sua extensão, por dois diferentes observadores com experiência e formação em histopatologia, para avaliação descritiva das características gerais histopatológicas da lesão. A partir desta avaliação, foram selecionadas, em aumento de 400X, três áreas em cada amostra para captura digital por sistema computadorizado Axion Cam ICc 5 (Zeiss®, Berlim, Alemanha), por meio de câmera digital acoplada ao microscópio óptico. Os aumentos utilizados nas objetivas foram de 5X, 10X e 40X e a ocular com aumento de 10X resultando em aumentos de 50X, 100X e 400X.

As imagens capturadas foram processadas em programa automático de morfometria Zen 2012 (Blue Edition) (Figura 6), aprovado pelo *National Institute of Health* (NIH) (Bethesda, USA).

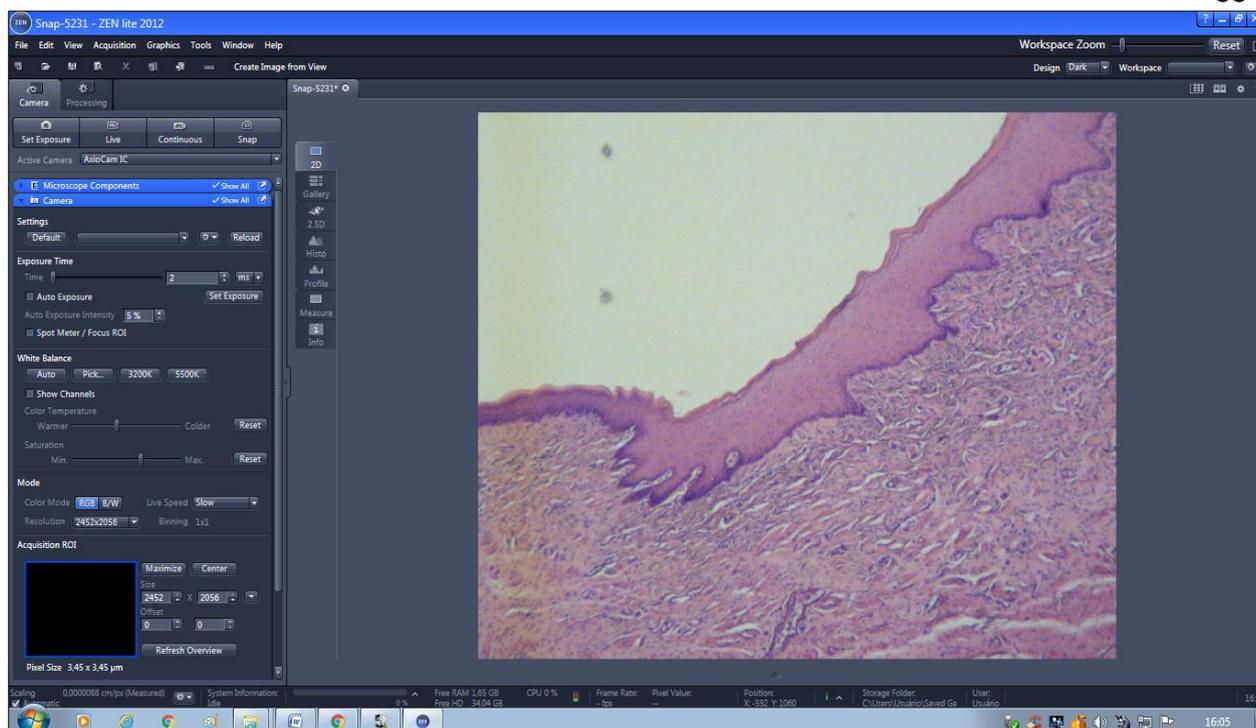


Figura 6 – Fotografia do programa utilizado para captura das imagens histológicas.

5.8 - Leucometria

O sangue foi obtido por meio de punção cardíaca (5mL). Após a coleta, o sangue foi transferido para tubos de 10mL contendo o anticoagulante EDTA.

A contagem global ou total de leucócitos foi realizada no analisador automático de uso veterinário poch – 100iv, Sysmex® (Kobe, Japão), no Laboratório de Análises Clínicas Animal, do CBR (UFJF, MG, Brasil).

Não foi feita a contagem diferencial dos leucócitos uma vez que o objetivo inicial do trabalho foi apresentar a importância do controle do número total de leucócitos nos animais sob tratamento quimioterápico.

5.9 - Análise estatística

Os dados são apresentados com a média e desvio padrão (\pm). Para os dados, foi utilizado o teste de *Kruskal-Wallis* por comparação múltipla com o teste *post hoc* de Dunn. Em todos os casos, o nível de significância foi de 5% ($p < 0,05$). As análises foram realizadas pelo software *GraphPad Prism 5:00* para Windows (GraphPad Software, San Diego, California, USA).

5.6 – Parâmetros para avaliação

Foram utilizados os seguintes parâmetros: avaliação da análise clínica dos animais; consumo de ração por animal através do comparativo entre os grupos; caquexia: avaliação do peso corporal – comparativo entre os grupos; efeito da atorvastatina, em diferentes dosagens, na prevenção da mucosite oral – análise macroscópica, análise histológica das mucosas e leucograma.

6 – RESULTADOS

6.1 - Análise clínica dos animais

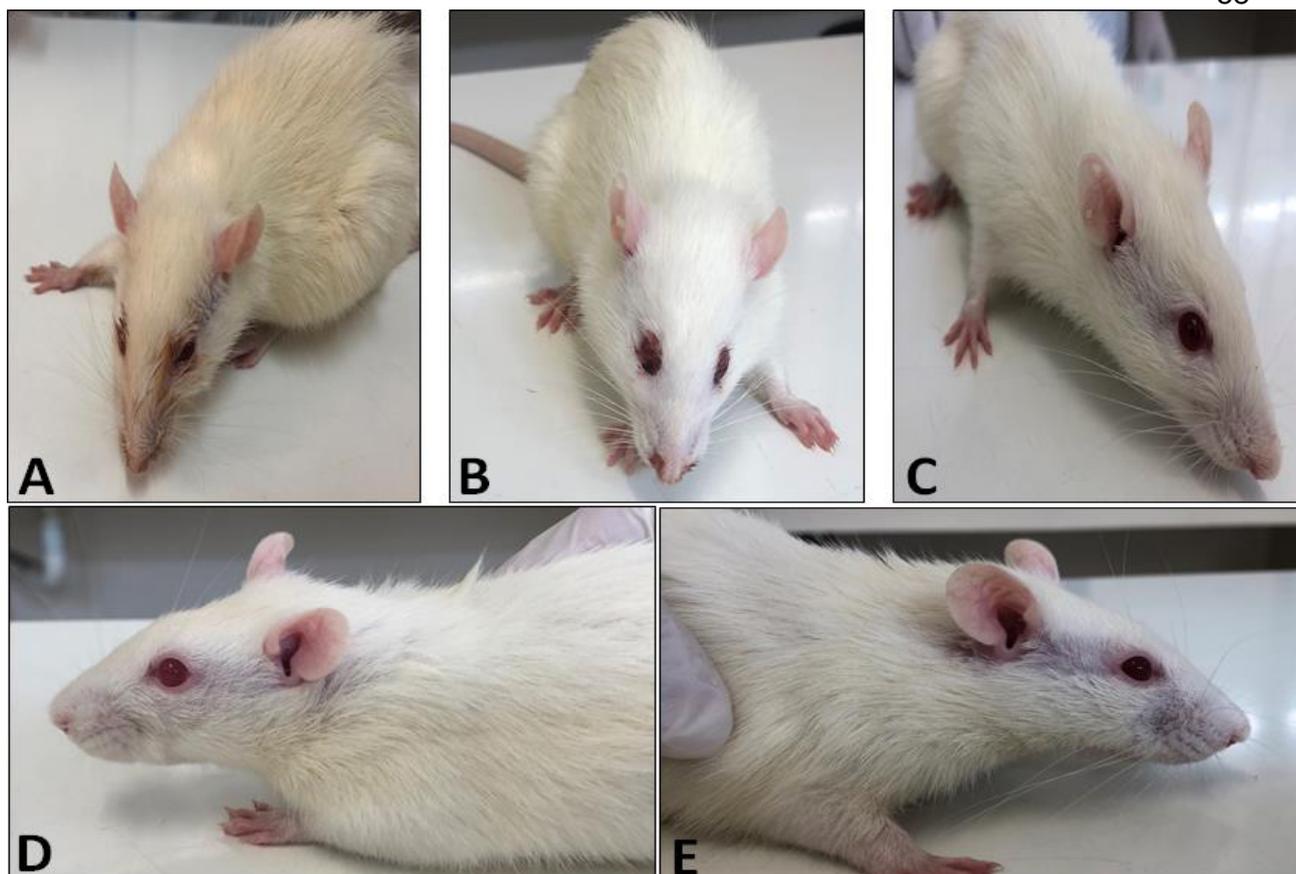
Os animais foram acompanhados clinicamente durante todos os dias do experimento.

Três dias após a indução da MO foi possível observar que os animais do Grupo Controle apresentaram diarreia constante, extenso sangramento ocular e nasal (Figura 7A), secreção na face, pelos ouriçados - sinal clínico característico de dor, caquexia constante e perda de peso. Os animais demonstraram pouca melhora clínica, levando um animal a óbito antes da data prevista.

Também foi possível verificar que os animais do Grupo I (Figura 7B), tratados com atorvastatina ip 1mg, apresentaram sangramento nasal e ocular, diarreia, caquexia, porém em menor proporção quando comparados ao Grupo Controle (Figura 7A). Os animais demonstraram pouca melhora clínica e houve óbito de um animal.

Os animais dos grupos tratados com atorvastatina 5 e 10mg apresentaram menores efeitos colaterais que todos os outros grupos, apresentando discreto sangramento nasal e ocular, pouca diarreia, ausência de caquexia, recuperando-se rapidamente (Figuras 7C).

Porém, os animais tratados com atorvastatina 10mg apresentaram alopecia na região da face (Figuras 7D e E), o que não ocorreu com os animais do grupo que utilizou a mesma medicação nas dosagens de 1 e 5mg.



Figuras: 7A – Grupo Controle: Animal apresentando sangramento ocular, nasal e secreção; B - Grupo I: Animal apresentando sangramento nasal e ocular; C – Grupo II: Animal com ausência de sinais clínicos de sangramento nasal, ocular e caquexia. D/E – Grupo III: Animal com ausência de sinais clínicos de sangramento nasal, ocular e apresentando alopecia na região da face.

6.2 – Avaliação do consumo de ração por animal – comparativo entre os grupos

Comparando o mesmo número de dias, no início do experimento, os animais pertencentes ao Grupo I consumiram mais ração que os demais grupos, até a indução da MO com 5-FU. Percebeu-se que o Grupo I consumiu menos ração que o Grupo II.

Nos dois primeiros dias da indução da MO, o Grupo II foi o grupo que menos consumiu ração, melhorando a ingestão, significativamente, após o término da medicação.

Vale ressaltar que os animais do Grupo III foram os que, logo após a medicação e da escarificação das bochechas, mais consumiram ração, estendendo-se até o final do experimento, em comparação com todos os demais grupos, além de terem se recuperado mais rapidamente.

O Grupo I apresentou queda significativa no consumo e houve a necessidade de se antecipar a eutanásia devido aos vários dias de queda no consumo, o que também pode ser percebido no Grupo Controle (Gráfico 1).

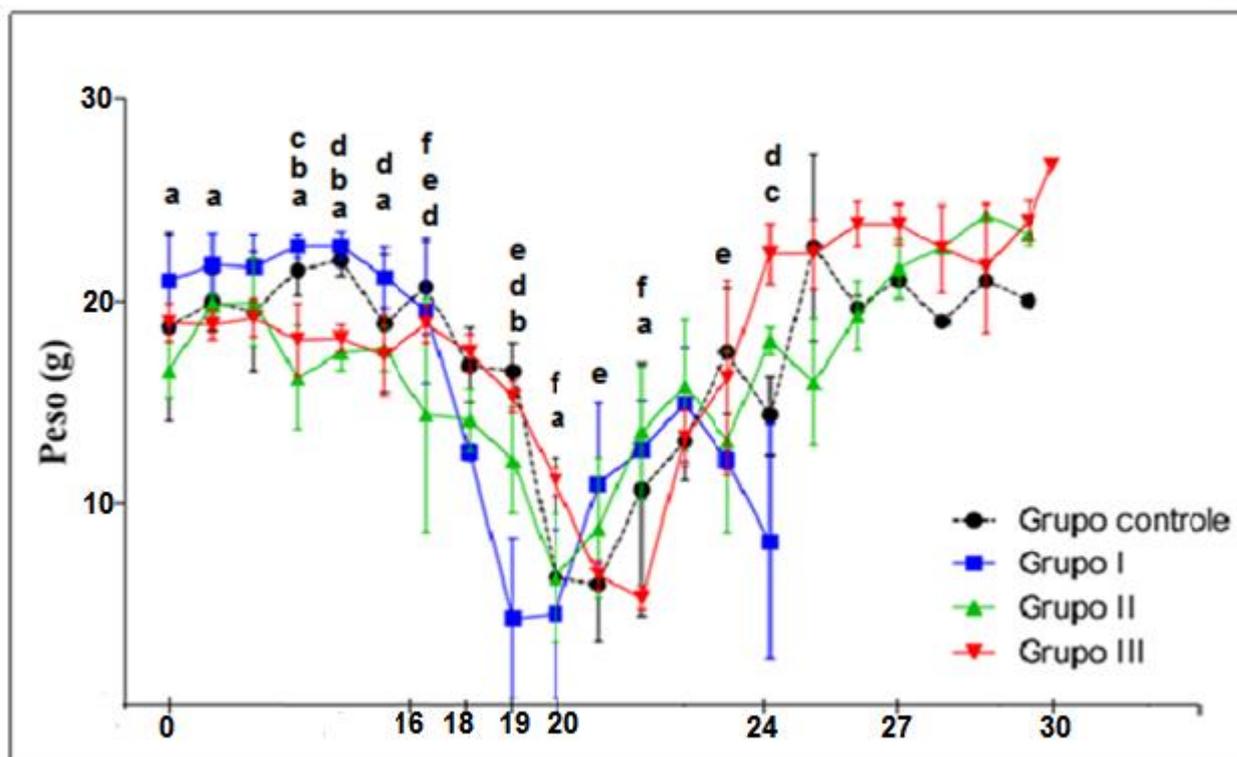


Gráfico 1: Avaliação do consumo de ração em todos os grupos de animais estudados (**D1:** $p < 0,0001$ (a – Grupo I e II); **D2:** $p < 0,0007$ (a – Grupo I e II); **D4:** $p < 0,0001$ (a – Grupo I e II, b – Grupo Controle e II, c – Grupo Controle e III, d – Grupo I e III); **D5:** $p < 0,0001$ (a – Grupo I e II, b – Grupo I e II, d – Grupo I e III); **D6:** $p = 0,0010$ (a – Grupo I e II, d – Grupo I e III); **D8:** $p < 0,0001$ (e – Grupo Controle e I, d – Grupo I e III, f – Grupo II e III); **D9:** $p < 0,0001$ (b – Grupo Controle e II; d – Grupo I e III, e – Grupo I e III); **D10:** $p = 0,0027$ (a – Grupo I e III, f – Grupo II e III); **D11:** $p < 0,0207$ (Grupo Controle e I); **D14:** $p = 0,0247$ (e – Grupo Controle e I); **D15:** $p = 0,0002$ (c – Grupo Controle e III, d – Grupo I e III))

6.3 – Avaliação do peso corporal (Caquexia) - comparativo entre os grupos

Comparando o mesmo número de dias, no início do experimento, os animais pertencentes ao Grupo Controle conseguiram manter a média de peso até o início da indução da MO (5-FU e escarificação das mucosas). Após, houve queda de peso e caquexia. Os animais começaram a ganhar peso novamente, porém, começaram a perder peso nos dias finais da experimentação levando ao aumento da caquexia.

Os animais do Grupo I foram os que mais mantiveram seu peso e que apresentaram ganho de peso corporal antes da administração do 5-FU. Apresentaram queda acentuada de peso, caquexia exacerbada e, novamente diminuição do peso corporal. Pode-se observar neste grupo que a caquexia foi maior em comparação aos demais grupos, levando animais a óbito e a necessidade de antecipação da eutanásia.

O Grupo II foi o que apresentou maior oscilação de ganho de peso, havendo

diminuição do mesmo após a indução da MO. Apresentaram ganho de peso após a indução da MO, ou seja, melhora da caquexia até o final da experimentação.

O Grupo III apresentou pouco aumento de peso durante a fase de pré-medicação com atorvastatina, mostrando diminuição do peso após a indução da MO. Após esta etapa, houve rápida melhora da caquexia e ganho de peso. Observou-se neste grupo que os animais ganharam mais peso e melhora da caquexia em comparação com os demais grupos (Gráfico 2).

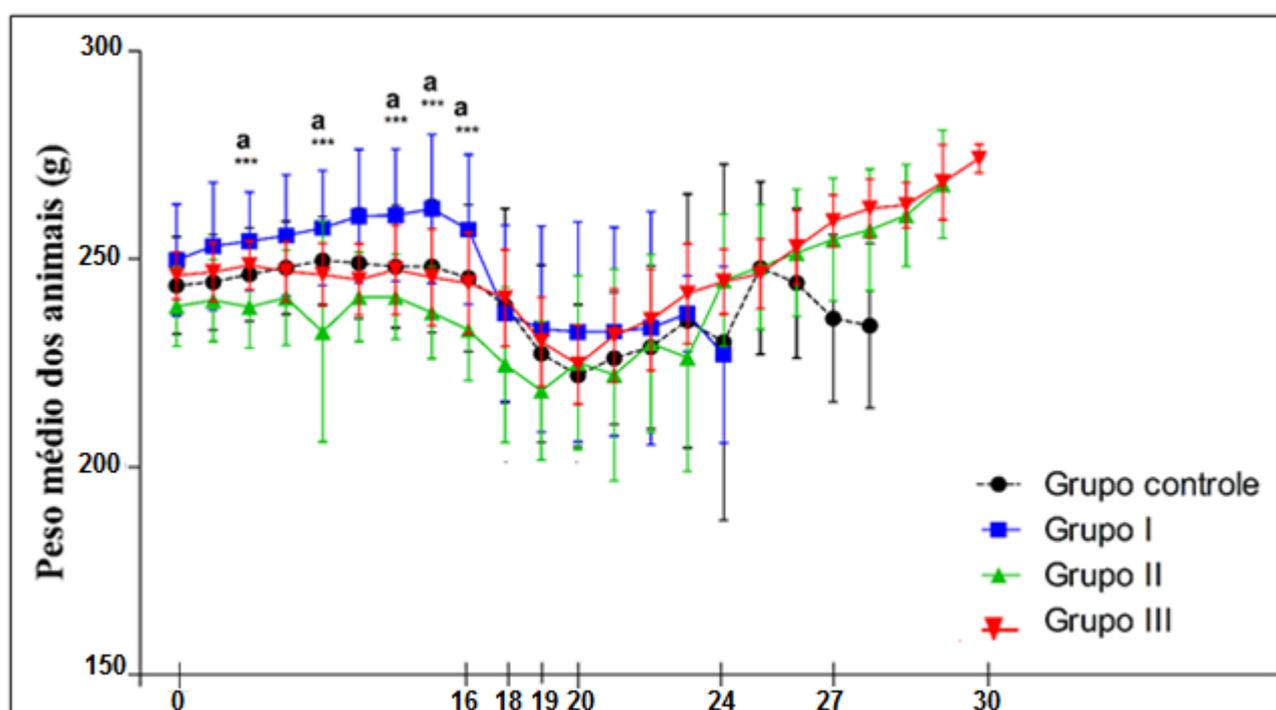


Gráfico 2 – Avaliação da caquexia por meio do peso corporal (D3: $p = 0,0436$ (a – Grupo I e II), D5: $p = 0,00356$ (Grupo I e II); D7: $p = 0,00224$ (Grupo I e II); D9: $p = 0,0261$ (Grupo I e II))

6.4 – Efeito da atorvastatina, em diferentes dosagens na prevenção da mucosite oral – análise macroscópica

O Grupo Controle demonstrou que o tratamento de ratos *Wistar* com 5-FU, sob contenção física, sem necessidade de utilização de anestesia com a finalidade de realização da escarificação da mucosa jugal, apresentou lesões ulcerativas menores.

Constatou-se presença de áreas eritematosas, hiperemia e ausência de hemorragia e de áreas de necrose. Tais alterações foram confirmadas no ato da eutanásia e no estudo histopatológico.

A Figura 8A apresenta a imagem de um animal sadio com finalidade de comparação das mucosas alteradas patologicamente (Figuras 8B e C).

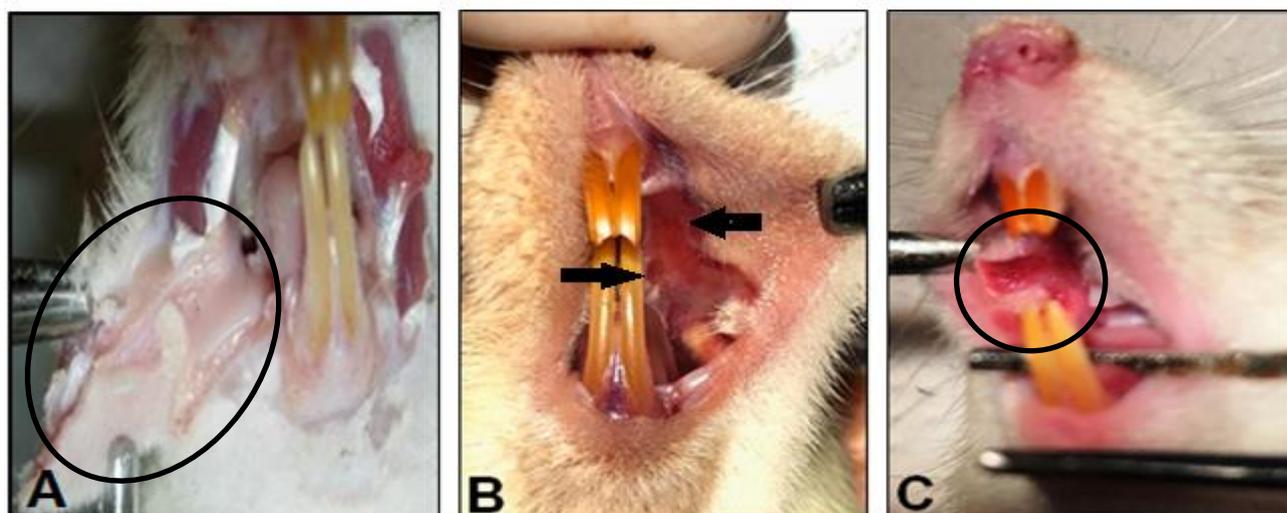
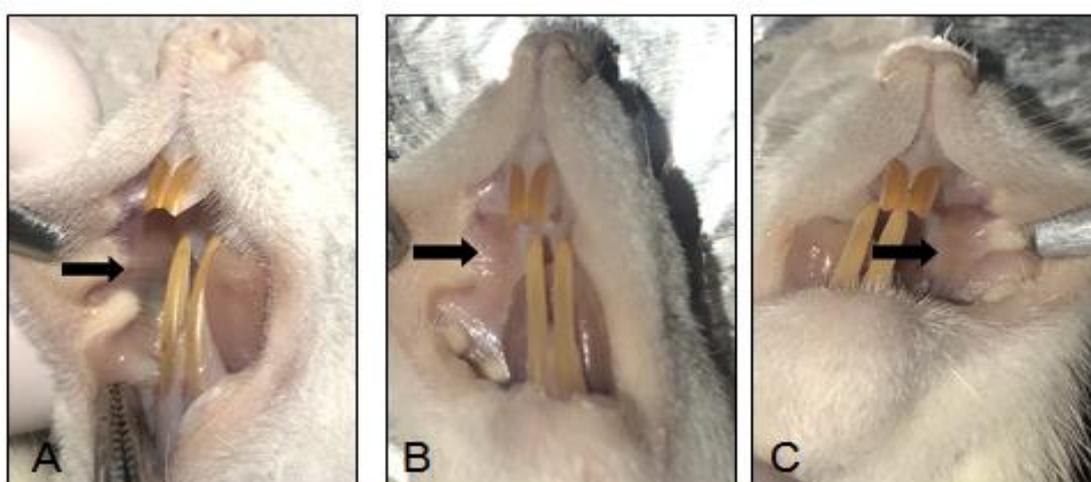


Figura 8: A - Animal sadio, demonstrando a mucosa com aspecto normal, rosa pálido, lisa, brilhante e homogênea. B/C – Grupo Controle: Animal com extensas áreas eritematosas, hiperemia e início de lesão ulcerativa (setas e delimitação).

Os animais tratados com atorvastatina 1, 5 e 10mg/kg/dia não apresentaram áreas eritematosas, hiperemia ou lesões ulcerativas. Desta forma, a atorvastatina foi capaz de prevenir o dano tecidual causado pelo 5-FU, apresentando apenas eritema discreto causado pela escarificação das bochechas (Figuras 9A, B e C).



Figuras 9: A /B /C: - Grupo I / II / III: Animais apresentaram mucosas jugais com características normais, rosa pálido, lisa, brilhante, homogênea apresentando sinais clínicos da escarificação (setas).

6.5 – Análise histológicas das mucosas

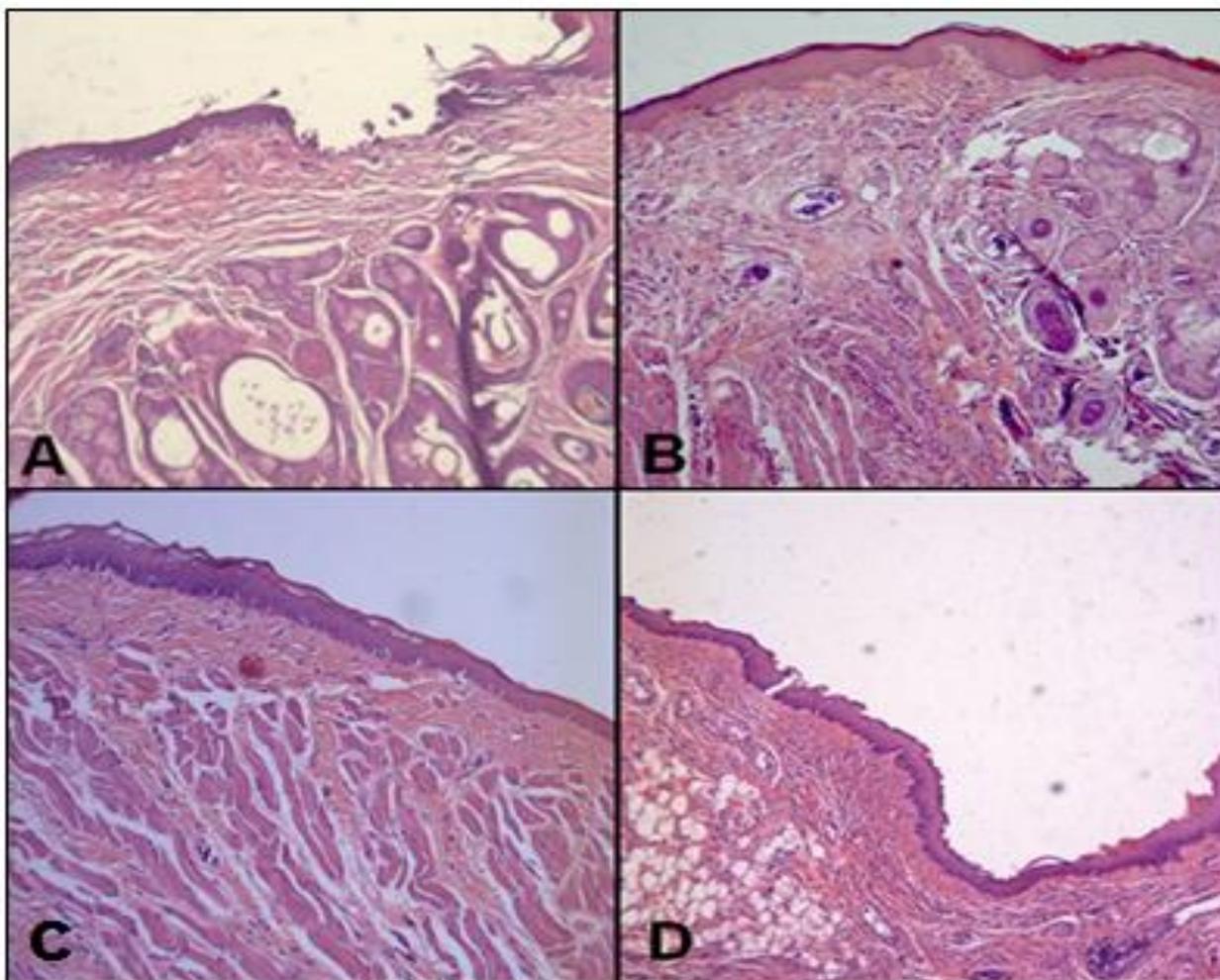
Todas as amostras das bochechas foram incluídas no sentido de se apresentar, ao corte, a área escarificada, ou seja, de modo a abranger toda a área correspondente ao epitélio de revestimento bucal e lâmina própria, em profundidade.

Através da análise histopatológica das amostras das mucosas jugais coradas por hematoxilina e eosina (HE) dos grupos envolvidos no experimento foi possível verificar a presença de infiltrado inflamatório difuso e ausência de áreas de necrose - sendo bastante variável de acordo com a medicação recebida - sinais referentes a lesões ulcerativas e preservação do epitélio de revestimento.

Os animais que receberam solução salina (solução fisiológica) ip 0,5mL, apresentaram sinais histológicos de MO – lesões ulcerativas e presença de áreas eritematosas (Figura 10A).

O grupo de animais que recebeu atorvastatina ip 1mg, não apresentou, histologicamente, presença de úlceras, mantendo a integridade e discreto aumento da espessura do tecido epitelial (Figura 10B).

Os animais que receberam atorvastatina ip 1, 5 e 10mg, não apresentaram, histologicamente, mucosite oral, mantendo o tecido epitelial íntegro, porém o epitélio do Grupo I apresentou-se mais espesso que os demais grupos (Figuras 10C e D).



Figuras 10: Fotomicrografia mostrando imagem de corte histológico de mucosa jugal corada em HE, em aumento de 40X. A: Grupo Controle - evidenciação de fina camada do tecido epitelial com exposição do tecido conjuntivo, caracterizando presença de úlcera – Mucosite Oral. B: Grupo I - preservação e pequeno aumento da espessura do epitélio. C/D: Grupo II/III - preservação da integridade epitelial e delgada camada do epitélio.

6.6 – Leucograma

Laboratorialmente um rato *Wistar*, oriundo do Centro de Biologia da Reprodução, apresenta uma contagem 4.000 a 10.000 leucócitos/mm³.

Através do Gráfico 3, observou-se que no Grupo III – animais tratados com Atorvastatina ip 10mg, apresentou resultado melhor que os outros grupos (I, II e Controle), mantendo o leucograma muito acima dos valores mínimos de normalidade.

Nos animais do Grupo II - animais tratados com Atorvastatina ip 5mg, o leucograma deste grupo ficou muito próximo dos valores mínimos, porém não sendo ainda considerados leucopênicos.

Os animais do Grupo I - animais tratados com Atorvastatina ip 1mg, mostraram um

leucograma com resultado pior em comparação aos outros grupos (Controle, II e III), apresentando quadro de leucopenia aguda.

O leucograma dos animais do Grupo Controle – animais que receberam solução fisiológica 0,5mL ficou abaixo dos valores mínimos de referência, quase próximos da normalidade, sendo considerados ainda leucopênicos.

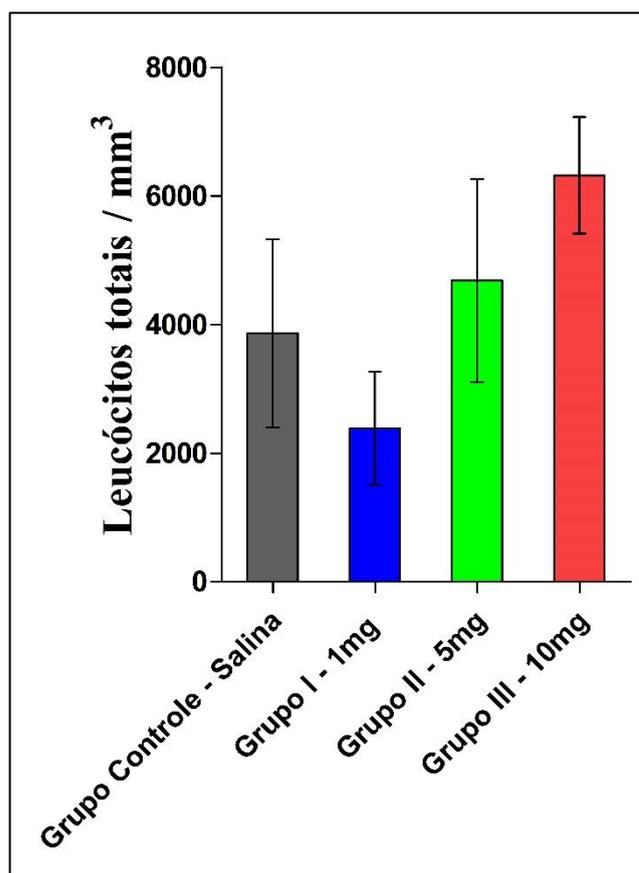


Figura 11 - Leucograma dos grupos experimentais

7 – DISCUSSÃO

A MO impacta negativamente na qualidade de vida dos pacientes, pois causa sintomatologia extremamente dolorosa, disfagia, odinofagia e disartria, levando estes pacientes a fracionar as doses terapêuticas ou, em muitos casos, interromper o tratamento antineoplásico (HERRSTEDT, 2000; MEDEIROS et al., 2011; CAMPOS et al., 2015).

Inúmeros modelos experimentais de mucosite induzida vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de investigar os mecanismos relacionados ao desenvolvimento dessa doença e avaliar os efeitos de diferentes agentes terapêuticos (SONIS et al., 1990, VANDERHOOF et al., 1990; SONIS et al., 2004; MEDEIROS et al., 2011; ARAÚJO et al., 2015; CAMPOS et al., 2015; SHIMAMURA et al., 2018).

Deve-se considerar que a mucosite se dá por um processo biológico complexo, somado ao efeito direto da droga antineoplásica sobre o epitélio bucal, à presença da flora bacteriana bucal e ao estado debilitado do paciente (CINAUCERO et al., 2017). Assim sendo, buscou-se neste trabalho investigar o potencial preventivo da atorvastatina, em diferentes dosagens, com o objetivo de avaliar a prevenção desta patologia causada por quimioterápicos. Dessa forma, a MO foi induzida através da utilização do medicamento 5-FU, em ratos *Wistar* de acordo com a metodologia de Sonis et al. (1990), Medeiros et al. (2011) e Campos et al. (2015).

Uma das grandes dificuldades em se desenvolver o modelo animal foi encontrada no momento de desenvolvimento da mucosite uma vez que a mucosa jugal dos animais é queratinizada, diferentemente do ser humano que apresenta um epitélio pavimentoso não queratinizado. Dessa maneira, é necessário um treinamento inicial, principalmente no que se refere à contenção física e escarificação das mucosas de modo a não ferir o animal e apenas simular o atrito que ocorre com a fricção dos dentes com as mesmas. Este processo de escarificação tem o objetivo de potencializar o surgimento da MO.

A escolha do 5-FU como fármaco antineoplásico foi baseada em estudos anteriores, que mostraram que o metotrexato – outro fármaco quimioterápico muito utilizado – falhou em causar mucosite em hamsters ou em ratos, apesar de ter causado alterações histológicas no tecido estudado (KAMEN et al., 2000). Baseado nisso, o 5-FU foi selecionado para ser usado neste modelo e por ser o fármaco quimioterápico mais utilizado em pesquisas de MO induzida e em tratamentos para câncer.

O esquema de utilização de duas doses de 60 e 40mg/kg de 5-FU associado ao

trauma mecânico, através da escarificação por agulha romba, teve o objetivo de exacerbar a estomatotoxicidade do medicamento (SONIS et al., 1990; SONIS; COSTELLO, 1995).

Medeiros et al. (2011), Campos et al. (2015) e Shimamura et al. (2018) utilizaram Quetamina e Xilazina para realização das escarificações das mucosas.

Anteriormente à definição deste projeto, realizou-se um experimento para adequação da metodologia utilizando 12 animais que seguiram os mesmos padrões, porém obtivemos óbito de 70% dos animais. Dessa forma, desenvolveu-se um novo projeto de adequação da metodologia com mais 12 animais, sem utilização de anestesia para sedação dos mesmos para realizar a escarificação e não ocorreu nenhum óbito. Sendo assim, foi definida a metodologia de contenção física, sem emprego de anestesia para escarificar as bochechas.

Clinicamente, neste experimento, pode-se observar que, em um número de 36 animais, houve sobrevida significativa e óbito de apenas dois animais, apesar da ausência de anestesia para realização das escarificações das bochechas. Neste trabalho, 100% dos animais foram contidos manualmente para a realização dos procedimentos. Em seu estudo, Medeiros et al. (2011) relataram mortalidade de 60% dos animais que foram submetidos a quimioterapia induzida e anestesia (Quetamina e Xilazina) para realização da escarificação das mucosas jugais. Pode-se perceber que a anestesia potencializa ainda mais os efeitos colaterais do tratamento antineoplásico.

Atualmente, não existe nenhuma intervenção que atue de maneira aceitável na prevenção ou no tratamento da mucosite oral. O tratamento padrão para esta complicação consiste em cuidados para controle da sintomatologia, com emprego de analgésicos tópicos ou uso interno, crioterapia oral, suporte nutricional e corticosteroides na forma de bochechos. Muitas estratégias preventivas e terapêuticas têm sido empregadas para controle desta doença induzida por antineoplásicos (LIMA et al., 2004; CINAUCERO et al., 2017). Dessa forma, diversos fármacos vêm sendo empregados de modo a modular as respostas inflamatórias ou imunes, seja com o intuito de tratar a lesão ou para elucidar os mecanismos capazes de modificar sua evolução.

Como está provado o envolvimento de diversas citocinas, como IL-1, IL-8 e TNF- α na patogênese dos processos inflamatórios, buscou-se neste trabalho empregar a atorvastatina como medicamento preventivo ou no intuito de diminuir a intensidade das lesões de MO.

A atorvastatina, uma estatina indicada para controle dos níveis de colesterol, foi escolhida por sua ação antiinflamatória, ação na inibição da trombogênese e imunomodulação (CAMPOS et al., 2015). Durante o desenvolvimento do estudo percebeu-

se que os animais tratados com esta medicação não foram acometidos por lesões ulcerativas compatíveis com a MO desencadeados pelo uso do 5-FU e escarificação das mucosas.

Os animais do Grupo Controle apresentaram perda de peso corporal aumentado, sangramento nasal e ocular, secreções, diarreia por vários dias, óbito de um animal e pelos ouriçados que são considerados características de sinais clínicos de dor. Algumas destas características também foram relatadas por Campos et al. (2015).

Os animais do Grupo I também apresentaram os mesmos efeitos colaterais, porém em maior proporção apesar da ausência de lesões ulcerativas. Houve óbito de apenas um animal antes da data prevista.

Os animais dos Grupos II e III apresentaram sangramento nasal e ocular discreto, diarreia por poucos dias, não houve óbito de nenhum animal, com melhora rápida do quadro de caquexia. Porém, os animais do Grupo III apresentaram alopecia ao redor da face, fato não apresentado pelos animais dos demais grupos. Para efeito de comparação, não há artigos nas bases de dados que cite os efeitos colaterais acima descritos e poucos artigos descrevem óbitos de animais como o de Medeiros et al (2011).

No presente estudo, o uso do 5-FU causou lesões menores nas mucosas jugais dos ratos pertencentes ao Grupo Controle quando eutanasiados no 24^o e 27^o dias após o início da quimioterapia, atingindo maior tamanho de lesão na eutanásia do 30^o dia. Os achados macroscópicos mostraram presença de pequenas úlceras, hiperemia e extensa área eritematosa que foram confirmados pela análise histopatológica. Esses resultados podem ser explicados pelo início da segunda fase, chamada fase vascular ou inflamatória, onde ocorre a liberação de citocinas inflamatórias que promovem maior dano tecidual e aumento da vascularização (SONIS, 1998). O estágio anterior, conhecido como fase epitelial ou fase primária, é instalado logo após o contato do medicamento quimioterápico sobre o epitélio, promovendo redução nas taxas de divisão celular do epitélio basal bucal. Como consequência, há uma diminuição da renovação celular levando a uma atrofia do epitélio tornando-o vulnerável a ulcerações (SONIS, 1998).

O desenvolvimento da MO observada nos animais no período das eutanásias no 24^o e 27^o dias, é a fase mais sintomática levando a um período de neutropenia grave do paciente (MEDEIROS et al., 2011; CAMPOS et al., 2015). A falta de renovação do epitélio devido à inibição da camada basal permite maior invasão bacteriana aumentando o risco de invasão de substâncias químicas no tecido adjacente. Anteriormente a esta fase, recentemente foi descrita uma fase de amplificação dos sinais onde os fatores de crescimento são

estimulados e permitem a exacerbação da doença. Clinicamente, não há separação destas duas fases e, por isso, são descritas juntas. Tais fatos podem ser verificados em achados clínicos, laboratoriais e histopatológicos.

Foram avaliados diariamente o peso corporal e consumo de ração dos animais submetidos ao tratamento quimioterápico. Como era de se esperar, após a indução da MO o consumo de ração foi reduzido pela dificuldade de mastigação e ingestão da mesma. Os animais do Grupo Controle, após a indução da MO, mantiveram o consumo de ração e manutenção do peso até o final do experimento. Já nos animais do Grupo I houve consumo normal de ração e manutenção do peso, porém após a indução da MO pode-se observar queda acentuada de peso e extrema caquexia. Os animais do Grupo II consumiram menos ração e tiveram oscilação de peso, diminuindo após a medicação e escarificação, melhorando a ingestão com consequente aumento de peso e diminuição da caquexia. Já os animais pertencentes ao Grupo III, apresentaram consumo normal de ração e manutenção do peso, queda de consumo e de peso corporal após a indução e melhora significativa, inclusive da caquexia, até o final da experimentação.

Para análise dos aspectos sistêmicos, foi avaliada a leucopenia dos animais já que é sabido que a medicação quimioterápica reduz o número de leucócitos levando o paciente a um risco relativamente maior de desenvolver uma septicemia quando comparado aos animais sem mucosite (ELTING et al., 2003). Tão logo os níveis das células brancas se normalizam, os processos de proliferação e diferenciação celulares tornam-se presentes e a fase de cicatrização das lesões é estabelecida (PLEVOVÁ, 1999). Realmente, a quimioterapia que levou ao desenvolvimento da mucosite alterou a contagem total de leucócitos, provando que o agente quimioterápico leva à mielossupressão, resultados observados por Sonis et al. (1990) e Campos et al. (2015).

A atorvastatina na dosagem de 10mg mostrou um efeito preventivo maior em comparação às outras dosagens, conseguindo elevar os níveis de leucócitos, ou seja, houve uma manutenção no número de leucócitos, dados que foram confirmados por Campos et al. (2015). O Grupo II apresentou discreta manutenção do número de leucócitos em comparação ao Grupo III. Esses valores são próximos de serem considerados leucopênicos, dados que não são compatíveis com os resultados obtidos por Medeiros et al. (2011). No Grupo I houve queda acentuada de leucócitos em relação aos demais grupos, sendo que o trabalho de Medeiros et al. (2011) obteve um índice maior.

Clinicamente, os animais dos grupos tratados com 5mg e 10mg apresentaram-se melhores. Os animais do Grupo I, tratados com atorvastatina 1mg apresentaram-se

cl clinicamente piores em comparação com o Grupo Controle no início do experimento. Esta avaliação clínica é possível através da verificação da prostração presente, da movimentação dos animais alterada, pelos ouriçados, presença de sangramentos e pela diarreia.

A administração de 5-FU seguida de escarificação das mucosas jugais dos animais que receberam apenas solução fisiológica 0,9% causou menor lesão ulcerativa característica de MO. Entretanto, seu estado clínico e leucograma se mostraram bastante alterados.

Os outros grupos tratados previamente com atorvastatina como medicação profilática – Grupos 1, 5 e 10mg não apresentaram lesões ulcerativas características de MO com as mucosas de todos os animais apresentando-se íntegras.

8 - CONCLUSÃO

Os dados sugerem que:

O tratamento preventivo com atorvastatina na dose de 10mg/kg/dia apresentou efeito protetor uma vez que foi verificada a prevenção da mucosite oral induzida e melhora do quadro de caquexia e do número de leucócitos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, B.J. **Histologia essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 389-407, 2012.

AHMED, A.A.; SELIM M.A; EL-SAYED, N.M. α -Lipoic acid ameliorates oral mucositis and oxidative stress induced by methotrexate in rats. Histological and immunohistochemical study. **Life Sci**, v. 15, n. 171, p. 51-59, 2017.

ALBUQUERQUE, I.L.S.; CAMARGO, T.C. Prevenção e tratamento da mucosite oral induzida por radioterapia: revisão de literatura. **Rev Bras Cancerol**, Rio de Janeiro, v. 53, n. 2, p. 195-209, Abr./Jun. 2007.

ALLEGRA, C.J.; GREM, J.L. Antimetabolites. In: De VITA, V.T.; LAWRENCE, T.S.; ROSENBERG, S.A. **De Vita, Hellman and Rosenber's Cancer – Principles and Practice of Oncology**. 5th ed. Lippincott: Raven, p. 432-452, 1997.

ALLE, N.; ALLE FILHO, N.; MARCHESANO, L.H. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (indomethacin, phenylbutazone, sulindac, naproxen, benzydamine and neflumic acid) on rat leukograms with a chronic inflammatory process. **Rev Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 120-126. Apr./June 1988.

ALLISON, R.R. et al. Multi-institutional, randomized, double-blind, placebo-controlled trial to assess the efficacy of a mucoadhesive hydrogel (MuGard) in mitigating oral mucositis symptoms in patients being treated with chemoradiation therapy for cancers of the head and neck. **Cancer**, v. 120, p. 1433–1440, 2014.

ALVARIÑO-MARTIN, C.; SARRIÓN-PÉREZ, M.G. Prevention and treatment of oral mucositis in patients receiving chemotherapy. **J Clin Exp Dent**, v. 6, n. 1, p. 74-80, Feb. 2014.

ANDALIB, S.; MOLHEMAZAR, P.; DANAFAR, H. In vitro and in vivo delivery of atorvastatin: A comparative study of anti-inflammatory activity of atorvastatin loaded copolymeric micelles. **J Biomater Appl**, v. 32 n. 8, p. 1127-1138, Dec. 2018.

ARAÚJO, A.A. et al. Azilsartan reduced TNF- α and IL-1 β levels, increased IL-10 levels and upregulated VEGF, FGF, KGF, and TGF- α in an oral mucositis model. **Plos One**, v. 10, n. 2, Feb. 2015.

AZEVEDO, I.M. et al. Effect of simvastatin in attenuation of mucositis induced by methotrexate in rats. **J Surg Clin Res**, v. 1, n. 1, p. 22-32, Jan. 2010.

BARASCH, A.; EPSTEIN, J. B. Management of cancer therapy-induced oral mucositis. **Dermatol Ther**, Copenhagen, v. 24, n. 4, p. 424-431, July/Aug. 2011.

BERGER, A.M.; KILROY, T.J. Adverse effects of treatment: oral complications. In: _____. **Cancer: principles and practice of oncology**. 5th ed. Lippincott- Raven, p. 2714-2725, 2001.

BOWEN, J.M.; GIBSON, R.J.; KEEFE, D.M. Animal models of mucositis: implications for therapy. **J Support Oncol**, v. 9, n. 5, p. 161-165, Sep. 2011.

BRUNNER, T.B. et al. Simultaneous integrated protection: A new concept for high-precision radiation therapy. **Strahlenther Onkol**, v. 192, n.12, p. 886-894, Oct. 2016.

CALABRESE, P.; CHABNER, B.A. Quimioterapia das doenças neoplásicas. In: BURTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **Goodman & Gilman – As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10^a ed. São Paulo: Artmed, cap. 52, p. 1040-1093, 2003.

CAMPOS, M.I.C. et al. Atorvastatin and trans-caryophyllene for the prevention of leukopenia in an experimental chemotherapy model in Wistar rats. **Mol Clin Oncol**, Apr. 2015.

_____. Oral mucositis in cancer treatment: natural history, prevention and treatment (Review). **Mol Clin Oncol**, London, v. 2, n. 3, p. 337-340, May 2014.

CARDANI, D. et al. Sodium glucose cotransporter 1 ligand BLF501 as a novel tool for management of gastrointestinal mucositis. **Mol Cancer**, London, v. 13, n. 13, p. 23, Feb. 2014.

CHAN, K.K; OZA, A.M.; SIU, L.L. The statins as anticancer agents. **Clin Cancer Res**, v. 9, p. 10-19. 2003.

CHAVELI-LÓPEZ, B.; BAGÁN-SEBASTIÁN. Treatment of oral mucositis due to chemotherapy. **J Clin Exp Dent**, v. 8, n. 2, p. e201-e209, Apr. 2016.

CHENG, K.K. Association of plasma methotrexate, neutropenia, hepatic dysfunction, nausea/vomiting and oral mucositis in children with cancer. **Eur J Cancer Care**, v. 17, n. 3, p. 306-11, May. 2008.

CINAUCERO, M. et al. New Frontiers in the Pathobiology and Treatment of Cancer Regimen-Related Mucosal Injury. **Front Pharmacol**, v. 8, n. 8, p. 354, Jun. 2017.

DAMANTE, C.A.; MARQUES, M.M.; DE MICHELI, G. Terapia com laser em baixa intensidade na cicatrização de feridas – revisão de literatura. **Rev Fac Odontol – RFO/UPF**, Passo Fundo, v. 13, n. 3, p. 88-93, set./dez. 2008.

DIAS, A.C.C. Diferentes manifestações que acometem a cavidade bucal de crianças durante o tratamento oncológico pediátrico. **Rev Bras Cancer**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 4, p. 231-241, Out./Dez. 2010.

DODD, M.J. et al. Risk factors for chemotherapy-induced oral mucositis: dental appliances, oral hygiene, previous oral lesions, and history of smoking. **Cancer Investig**, New York, v. 17, n. 4, p. 278-284, 1999.

DOGAN, M.D.; CAN, G.; MEREAL. R. Effectiveness of Black Mulberry Molasses in Prevention of Radiotherapy-Induced Oral Mucositis: A Randomized Controlled Study in Head and Neck Cancer Patients. **J Altern Complement Med**, v. 23, n. 12, p. 971-979, Dec. 2017.

ELTING, L.S. et al. The burdens of cancer therapy. Clinical and economic outcomes of chemotherapy-induced mucositis. **Cancer**, New York, v. 98, n. 7, p. 1531-1539, Oct. 2003.

ENDO, A. The Discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. **J Lipid Res**, Memphis, v. 33, n. 11, p. 1569-1582, Nov. 1992.

ESTEVIÃO, L.R.M. et al. Neoangiogênese de retalhos cutâneos em ratos tratados com óleo de copaíba. **Pesq Agropec Bras**, Brasília, v. 44, n. 4, p. 406-412, Abr. 2009.

FEKRAZAD, R.; CHINIFORUSH, N. Oral mucositis prevention and management by therapeutic laser in head and neck cancers. **J Lasers Med Sci**, Tehran, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2014.

FERREIRA, T.M. et al. Oral supplementation of butyrate reduces mucositis and intestinal permeability associated with 5-Fluorouracil administration. **Lipids**, Berlin, v. 47, n. 7, p. 669-678, July, 2012.

GALVÃO, V.; CASTRO, C.H.B.C.; CONSOLARO, A. Severe mucositis in patient with leukemia: a therapeutic approach. **Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-Fac**, Camaragibe, v. 6, n. 2, p. 35-40, Abr./Jun. 2006.

GOMES, D.Q.C. et al. Mucosite oral radioinduzida: etiologia, características clínico-histopatológicas, complicações e tratamento. **Odonto Clin Cient**, Recife, v. 8, n. 3, p. 203-207, Jul./Set. 2009.

HE, G.X.; TAN, W. High-dose atorvastatin pretreatment could diminishes microvascular impairment in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. **J Geriatr Cardio**, Beijing, v. 10, n. 4, p. 355-360, Dec. 2013.

HERRSTEDT, J. Prevention and management of mucositis in patients with cancer. **Int J Antimicrob Agents**, Washington, v. 16, n. 2, p. 161-163, Feb. 2000.

HITOMI, S. et al. Gingerol and shogaol, active ingredients of the traditional Japanese medicine hangeshashinto, relief oral ulcerative mucositis-induced pain via action on Na⁺ channels. **Pharmacol Res**, v. 117, p. 288-302, Dec. 2017.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tratamento/radioterapia>. Acesso em: 26 de agosto de 2019.

JAIN, P.; KESERVANI, R.K.; DAHIMA, R. In-vivo characterization of hydrogel for treatment of chemo-radiotherapy induced oral mucositis. **Pharmacol**, Valencia, v. 1, p. 1016-1025, Apr. 2010.

JHAM, B.C.; FREIRE, A.R.S. Oral complications of radiotherapy in the head and neck. **Braz J Otorhinolaryngol**, São Paulo, v. 75, n. 5, p. 704-78, Sep./Oct. 2006.

KAMEN, B.A. et al. **Cancer Medicine**. 5a ed. Ontario, cap. 46. 2000.

KANAGALINGAM, J. et al. Patient and oncologist perceptions regarding symptoms and impact on quality-of-life of oral mucositis in cancer treatment: results from the Awareness Drives Oral Mucositis Perception (ADOPT) study. **Support Care Cancer**, v. 26, n. 7, p. 2191-2200, Jul. 2018.

KEEFE, D.M. et al. Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. **Cancer**, New York, v. 109, n. 5, p. 820-830, Mar. 2007.

KIN, J.H. et al. Alpha lipoic acid attenuates radiation-induced oral mucositis in rats. **Oncotarget**, v. 8, n. 42, p. 72739-72747, Aug. 2017.

KIRK, J. et al. Text mining-based in silico drug discovery in oral mucositis caused by high-dose cancer therapy. **Support Care Cancer**, v. 26, n. 8, p. 2695-2705, Aug. 2018.

KNOX, J.J.; PUODZIUNAS, A.L.; FELD, R. Chemotherapy-induced oral mucositis. Prevention and management. **Drugs Aging**, Mairangi Bay, v. 17, n. 4, p. 257-267, Oct. 2000.

KOSE, E. et al. Effects on serum uric acid by difference of the renal protective effects with atorvastatin and rosuvastatin in chronic kidney disease patients. **Biol Pharm Bull**, Tokyo, v. 37, n. 2, p. 226-231, Feb. 2014.

KÖSTLER, W.J. et al. Oral mucositis complicating chemotherapy and/or radiotherapy: options for prevention and treatment. **CA Cancer J Clin**, New York, v. 51, n. 5, p. 290-315, Sep./Oct. 2001.

KUDUBAN, O. et al. The effect of hippophae rhamnoides extract on oral mucositis induced in rats with methotrexate. **J Appl Oral Sci**, v. 24, n. 5, p. 423-430, Sep./Oct. 2016.

KWOK, K.; SCHUBERT, M.M. Drogas anti-neoplásicas. In: YAGELA, J. A.; NEIDLE, A.; DOWD, F. **Farmacologia e Terapêutica para Dentistas**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, cap. 40, p. 533-458, 2000.

LALLA, R.V. et al. MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. **Cancer**, v. 120, p. 1453–1461. 2014.

LALLA, R.V.; SONIS, S.T.; PETERSON, D.E. Management of oral mucositis in patients with cancer. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, v. 52, n. 1, p. 61-68, Jan. 2008.

LARA, R.N.; GUERRA, E.N.S.; MELO, N.S. Macroscopic and microscopic effects of GaAAIAs diode laser and dexamethasone therapies on oral mucositis induced by fluorouracil in rats. **Oral Health Prev Dent**, New Malden, v. 5, n. 1, p. 63-71, Jan. 2007.

LAUF, U.; LA FATA, V.; LIAO, J.K. Inhibition of 3-Hydroxy-3-methylglutaryl (HMG) - CoA reductase blocks hypoxia-mediated down-regulation of endothelial nitric oxide synthase. **J Biol Chem**, Baltimore, v. 272, n. 50, p. 31725-3179, Dec.1997.

LEA, A.P.; McTAVISH, D. Atorvastatin. A review of its pharmacology and teherapeutic potential in the management of hyperlipidaemias. **Drugs**. New York, v. 53, n. 5, p. 828-847, May. 1997.

LILLIE, L.E.; TEMPLE, N.J.; FLORENCE, L.Z. Reference values for young normal Sprague-Dawley rats: weight gain, hematology and clinical chemistry. **Hum Exp Toxicol**, Basingstoke, p. 15, n. 8, p. 612-616, Aug. 1996.

LIMA, V. et al. Effects of TNF- α inhibitors pentoxifylline and thalidomide on the alveolar bone loss in short-term experimental periodontal disease in rats. **J Periodontol**, Indianapolis, v. 75, n. 1, p. 162-168, Jan. 2004.

LIMA, G.M. et al. Amniotic membrane as a biological dressing for 5-fluorouracil-induced oral mucositis in rats. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 44, n. 7, p. 845-51, Jul. 2015.

LIU, D. et al. Atorvastatin protects vascular smooth muscle cells from TGF- β 1- stimulated calcification by inducing autophagy via suppression of the β -catenin pathway. **Cell Physiol Biochem**, Baltimore, v. 33, n. 1, p. 129-141, Feb. 2014.

LIU, W.; ZHANG, C.C.; LI, K. Prognostic value of chemotherapy-induced leucopenia in small-cell lung cancer. **Cancer Biol Med**, Tianjin, v. 10, n. 2, p. 92-98, June. 2013.

MARTINS, A.C.M.; CAÇADOR, N.P.; GAETI, W.P. Complicações bucais da quimioterapia antineoplásica. **Acta Scien**, Maringá, v. 24, n. 3, p. 663-670, Mar. 2002.

McCARTHY, G.M. et al. Risk factors associated with mucositis in cancer patients receiving 5-fluorouracil. **Oral Oncol**, Oxford, v. 34, n. 6, p. 484-90, Nov. 1998.

MEDEIROS, C. et al. Effect of atorvastatin on 5-fluorouracil-induced experimental oral mucositis. **Cancer Chemoth Pharmacol**, Berlin, v. 67, n. 5, p. 1085-1100, May 2011.

MEHTA, D.; MALIK, A.B. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. **Physiol Rev**, Bethesda, v. 86, n. 1, p. 279-367, Jan. 2006.

OKUDA, Y. et al. Aminoguanidine, a selective inhibitor of the inducible nitric oxide synthase, has different effects on experimental allergic encephalomyelitis in the induction and progression phase. **J Neuroimmunol**, Amsterdam v. 81, n. 1-2, p. 201- 210, June 1998.

OWLIA, F.; KAZEMEINI, S.K.; GHOLAMI, N. Prevention and management of mucositis in patients with cancer: a review article. **Iran J Canc Prev**, Tehran, v. 5, n. 4, p. 216-220, Fall, 2012.

PAVESI, V. C. S. et al. Efeito de cogumelos medicinais na reabilitação da inflamação quimio-induzida. **Rev Bras Cir Cabeça Pescoço**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 10-14, Jan./Fev./Mar. 2008.

PETERSON, D.E. New strategies for management of oral mucositis in cancer patients. **J Support Oncol**, Huntington, v. 4, n. 2, p. 9-13, Feb. 2006.

PETERSON, D.E.; D`AMBROSIO, J.A. Nonsurgical management of head and neck cancer patients. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, v. 38, n. 3, p. 425-445, July 1994.

PETERSON, D.E.; JONES, J.B.; PETIT, R.G. Randomized, placebo-controlled trial of Saforis for prevention and treatment of oral mucositis in breast cancer patients receiving anthracycline-based chemotherapy. **Cancer**, v. 15, n. 109., p. 322-31, Jan. 2007.

PINEDO, H.M.; PETERS, G.F. Fluorouracil: biochemistry and pharmacology. **J Clin Oncol**, New York, v. 6, n. 10, p. 1653-1664, Oct. 1988.

PIZZORNO, G. et al. **Cancer Medicine**. Ontário, 2000. cap. 50.

PLEVOVÁ, P. Prevention and treatment of chemotherapy – and radiotherapy – induced oral mucositis: a review. **Oral Oncol**, Oxford, v. 35, n. 5, p. 453-470, Sep. 1999.

PONOMAREV, E.D. et al. CNS-derived interleukin-4 is essential for the regulation of autoimmune inflammation and induces a state of alternative activation in microglial cells. **J Neurosci**, Baltimore, v. 27, n. 40, p. 10714-21, Oct. 2007.

QUTOB, A.F. et al. Prevention of oral mucositis in children receiving cancer therapy: a systematic review and evidence-based analysis. **Oral Oncol**, Oxford, v. 6, p. 433- 438, 2012.

RIDRUEJO, E. et al. Potential molecular targets of statins in the prevention of hepatocarcinogenesis. **Ann Hepatol**, v. 17, n. 1, p. 490-500, Apr. 2018

RILEY, P. et al. Interventions for preventing oral mucositis in patients with cancer receiving treatment: oral cryotherapy. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 23, 2015

ROBINSON, R. Mucositis – a nursing management approach. **Oncol Nurs**, Edinburgh, v. 12, n. 4, p. 14-16, July/Aug. 2008.

RUBENSTEIN, E.B. et al. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. **Cancer**, v. 100, p. 2026–2046, 2004.

RUBIN, J.S. et al. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. **Proc Natl Acad Sci**, v. 86, p. 802–806, 1998.

RUGO, H.S. et al. Prevention of everolimus/exemestane (EVE/EXE) stomatitis in postmenopausal (PM) women with hormone receptor-positive (HRC) metastatic breast cancer (MBC) using a dexamethasone-based mouthwash (MW): results of the SWISH trial. **J Clin Oncol**, v. 34, p. 189, 2016.

RUIZ-ESQUIDE, G. et al. Treatment and prevention of cancer treatment related oral mucositis. **Rev Med Chile**, Santiago, v. 139, n. 3, p. 373-381, Mar. 2011.

RUULS, S.R. et al. Aggravation of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) by administration of nitric oxide (NO) synthase inhibitors. **Clin Exp Immunol**, London, v. 103, n. 3, p. 467-474, Mar. 1996.

SANGUINETI, G. et al. A. Effect of radiotherapy and chemotherapy on the risk of mucositis during intensity-modulated radiation therapy for oropharyngeal cancer. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 83, n. 1, p. 235-22, May. 2012.

SANTOS, P.S.S.; MAGALHÃES, M.H.C.G. Avaliação da mucosite oral em pacientes que receberam adequação bucal prévia ao transplante de medula óssea. **RPG Rev Pós Grad**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 77-82, 2006.

SCHIRMER, E.M.; FERRARI, A.; TRINDADE, L.C.T. Oral mucositis evolution after nutritional intervention in cancer patients under palliative care. **Rev Dor**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 141-146, Abr./Jun. 2012.

SCHUBERT, M.M.; EPSTEIN, J.B.; PETERSON, D.E. Complicações orais do tratamento do câncer. In: YAGELA, J. A.; NEIDLE, E. A., DOWD, F. **Farmacologia e Terapêutica para Dentistas**. 4a ed. Rio de Janeiro: Gunabara-Koogan, cap. 40, p. 533-548, 2000.

SEUNGJOON, K. et al. Enhanced expression of constitutive and inducible forms of nitric oxide synthase in autoimmune encephalomyelitis. **J Vet Sci**, Seoul, v. 1, n. 1, p. 11-17, June 2000.

SHEIBANI, K.M. et al. Efficacy of benzydamine oral rinse in prevention and management of radiation-induced oral mucositis: a double-blind placebo controlled randomized clinical trial. **Asia Pac J Clin Oncol**, v. 11, p. 22–27, 2015.

SHIMAMURA, Y. et al. A Mouse model for oral mucositis induced by cancer chemotherapy. **Anticancer Res**, v. 38, n. 1, p. 307-312, Jan 2018.

SILVERMAN, S.J. Diagnosis and management of oral mucositis. **J Support Oncol**, Huntington, v. 5, n. 2 (suppl 1) p. 13-21, Feb. 2007.

SKEEF, M.A. et al. S-nitrosoglutathione accelerates recovery from 5-fluorouracil-induced oral mucositis. **Plos One**, v. 9, n 12, Dec. 2014.

SOFIS, M.J. et al. KU32 prevents 5-fluorouracil induced cognitive impairment. **Brain Res**, v. 30, p. 186-190, Mar. 2017.

SONIS, S. T. An animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. **Oral Surgery Oral Med Oral Pathol**, St. Louis, v. 69, n. 4, p. 437-443, Apr. 1990.

_____. Prevention of chemotherapy – induced ulcerative mucositis by transforming growth factor β 3. **Cancer Res**, Baltimore, v. 54, n. 5, p. 1135-8, Mar. 1994.

_____. Mucositis as a biological process: a new hipotesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. **Oral Oncol**, Oxford, v. 34, p. 39-43, 1998.

_____. Efficacy of palifermina (keratinocyte growth factor-I) in the amelioration of oral mucositis. **Core Evid**, New York, v. 4, n. 6, p. 199-205, June 2009.

_____. New thoughts on the initiation of mucositis. **Oral Dis**, Copenhagen, v. 16, n. 7, p. 597-600, Oct. 2010.

_____. Pathobiology of mucositis. **Oncol Nurs**, Edinburgh, v. 20, n. 1, p. 11-5, Feb. 2004.

_____. Oral mucositis in head and neck cancer: risk, biology, and management. **Am Soc Clin Oncol Educ Book**, 2013.

SONIS, S. T.; COSTELLO, K. A. A database for mucosites induced by cancer chemotherapy. **Oral Oncol**, Oxford, v. 31, n. 4, p. 258-260, 1995.

SONIS, S.T.; VILLA, A. Phase II investigational oral drugs for the treatment of radio/chemotherapy induced oral mucositis. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 27, n. 2, p. 147-154, Jan. 2018.

SOUGIANNIS, A.T. et al. 5 fluorouracil chemotherapy on gut inflammation, functional parameters and gut microbiota. **Brain Behav Immun**, v. 80, p. 44-45, Aug. 2019.

SPEZZIA, S. Mucosite oral. **J Oral Invest**, v. 4, n. 1, p. 14-18, Abr. 2015.

SPIELBERG, R. et al. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. **N Engl J Med**, Boston, v. 351, n. 25, p. 2590-2598, Dec. 2004.

STIFF, P. et al. Palifermina reduce el dolor bucofaríngeo notificado por el paciente y mejora la función del paciente en el contexto de un trasplante de células pluripotenciales hematopoyéticas. **J Clin Oncol**, New York, v. 9, n. 2, p. 69-78, Abr. 2007.

STONE, R.; FLIEDNER, M.C.; SMITE, A.C.M. Management of oral mucositis in patients with cancer. **Eur J Oncol Nurs**, Edinburgh, v. 9, n. 1, p. 524-532, Sep. 2005.

STRINGER, A.M. Interaction between host cells and microbes in chemotherapy-induced mucositis. **Nutrients**, Basel, v. 5, n. 5, p. 1488-1499, Apr. 2013.

THORNHILL, M.H. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of pentoxifylline for the treatment of recurrent aphthous stomatitis. **Arch Dermatol**, Chicago, v. 143, n. 4, p. 463-470, Apr. 2007.

TROTTI, A. et al. Mucositis incidence, severity and associated outcomes in patients with head and neck cancer receiving radiotherapy with or without chemotherapy: a systematic literature review. **Radiother Oncol**, Amsterdam, v. 66, n. 3, p. 253-262, Mar. 2000.

TRUCCI, V.M.; VEECK, E.B.; MOROSOLLI, A.R. Current strategies for the management of oral mucositis induced by radiotherapy or chemotherapy. **J Dental Sci**, Porto Alegre, v. 24, n. 3, p. 309-314, May/Jun. 2009.

TSUJIMOTO, T. et al. L-glutamine decreases the severity of mucositis induced by chemoradiotherapy in patients with locally advanced head and neck cancer: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Oncol Rep**, v. 33, p. 33–39, 2015.

VANDERHOOF, J.A. et al. Effects of dietary lipids on recovery from mucosal injury. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 98, n. 5, p. 1226-1231, May 1990.

VAN SEBILLE, Y.Z.A. et al. Management of mucositis during chemotherapy: from pathophysiology to pragmatic therapeutics. **Curr Oncol Rep**, v. 17, p. 50, 2015.

VIEIRA, WDA; NAGATO, AK; CAMPOS, MIC. Modelo experimental de mucosite oral e intestinal em ratos wistar. **Rev Int Est Exp**, v. 10, p. 01-60, 2018.

VILLA, A.; SONIS, S.T. Mucositis: pathobiology and management. **Curr Opin Oncol**, v. 27, n. 3, p. 159-64, May 2015.

VOLPATO, L.E.R. et al. Radiation therapy and chemotherapy induced oral mucositis. **Braz J Otorhinolaryngol**, São Paulo, v. 73, n. 4, p. 562-568, July/Aug. 2007.

WALLADBEGI. J. et al. Cooling of the oral mucosa to prevent adverse effects of chemotherapeutic agents: an in vitro study. **J Oral Pathol Med**, v. 47, n. 5, p. 477-483, Mar. 2018.

WARDILL, H.R.; BOWEN, J.M.; GIBSON, R.J. New pharmacotherapy options for chemotherapy-induced alimentary mucositis. **Expert Opin Biol Ther**, London, v. 14, n. 3, p. 347-354, Mar. 2014.

YUAN, A.; SONIS, S.T. Emerging therapies for the prevention and treatment of oral mucositis
Expert Opin Emerg Drugs, v. 19, p. 343–351, 2014.

APÊNDICE A – APROVAÇÃO DO CEUA**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA****CERTIFICADO**

A COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF, em reunião realizada em 12/06/2018, analisou o protocolo nº.005/2018 intitulado "Mucosite oral Induzida em ratos Wistar Tratados com Atorvastatina - Potencial Preventivo, efeito sobre o número de leucócitos e processo de caquexia", projeto de pesquisa sob a responsabilidade de Fernando Monteiro Aarestrup e colaboração de Maria Inês da Cruz Campos e Wellington Dorigheto Andrade Vieira a ser realizado no período de 01/08/2018 a 01/08/2019. Por estar de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado pela CEUA. Serão utilizados 36 machos de Rato Wistar projeto a ser realizado no biotério Localizado no Centro de Biologia da Reprodução(CBR) no Campus da Universidade Federal de Juiz de Fora. O prazo de validade desse certificado é equivalente a vigência do projeto prorrogável por mais um ano, desde que seja enviada justificativa a CEUA durante a vigência do projeto de acordo com orientação técnica do CONCEA.

CERTIFICATE

We certify that the protocol no. 005/2018 - CEUA about " Mucosite oral Induzida em ratos Wistar Tratados com Atorvastatina - Potencial Preventivo, efeito sobre o número de leucócitos e processo de caquexia" under responsibility of Fernando Monteiro Aarestrup and collaboration of Maria Inês da Cruz Campos and Wellington Dorigheto Andrade Vieira is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian Council for Control of Animal Experimentation (Concea) and was approved by the PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF – ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL HANDLING (CEUA) in 12/06/2018. For the development of this research 36 males of Wistar rats, will be delivered as requested in the period of 01/08/2018 to 01/08/2019. The Project will be performed at Biology Reproduction Center located at Federal University of Juiz de Fora. The term of validity of this certificate might be extended for one more year by means of justification during the period of validity.

Juiz de Fora, 04 de julho de 2018.

Vice-coordenadora
CEUA

Coordenadora
CEUA