



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

**EFEITO DE UMA SOLUÇÃO TÓPICA ORAL DE
MULTICOMPONENTE NO TRATAMENTO DA
MUCOSITE ORAL QUIMIOINDUZIDA EM
RATOS Wistar**

REBECCA RHUANNY TOLENTINO LIMEIRA

SAPIENTIA AEDIFICAT

2018

REBECCA RHUANNY TOLENTINO LIMEIRA

**EFEITO DE UMA SOLUÇÃO TÓPICA ORAL DE
MULTICOMPONENTE NO TRATAMENTO DA
MUCOSITE ORAL QUIMIOINDUZIDA EM RATOS *WISTAR***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Ciências Odontológicas.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro

Co-Orientadora: Dra. Isabella Lima Arrais Ribeiro

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L733e Limeira, Rebecca Rhuanny Tolentino.

Efeito de uma solução tópica oral de multicomponente no tratamento da mucosite oral quimioinduzida em Ratos Wistar / Rebecca Rhuanny Tolentino Limeira. - João Pessoa, 2018.
43f.

Orientação: Ricardo Dias de Castro.

Coorientação: Isabella Lima Arrais Ribeiro.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/Ciências Saúde.

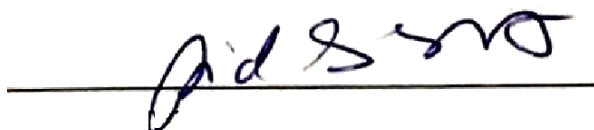
1. Mucosite oral. 2. Modelo animal. 3. Quimioterapia.
4. Solução. I. de Castro, Ricardo Dias. II. Ribeiro, Isabella Lima Arrais. III. Título.

UFPB/BC

REBECCA RHUANNY TOLENTINO LIMEIRA

**EFEITO DE UMA SOLUÇÃO TÓPICA ORAL DE
MULTICOMPONENTE NO TRATAMENTO DA
MUCOSITE ORAL QUIMIOINDUZIDA EM RATOS *WISTAR***

Banca Examinadora



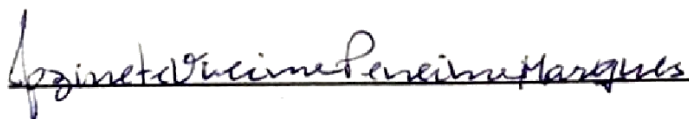
Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro (Orientador)

Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba



Prof. Dr. Felipe Queiroga Sarmiento Guerra (Examinador Interno)

Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba



Profa. Dra. Jozinete Vieira Pereira (Examinador Externo)

Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba

DEDICATÓRIA

A **Deus**. Por ter sido minha força e sustentação durante esta caminhada, por ter trilhado os meus caminhos até aqui.

Aos meus pais, **Valmir Limeira de Souza e Rubênia Rúbia Tolentino Limeira**, por toda dedicação para me permitir estudar, pelas orações que me fortaleceram, e principalmente, pelo incentivo diário diante todas as dificuldades.

Ao meu irmão, **Walber Rhuan Tolentino Limeira**, pelo companheirismo e paciência de todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

Ao professor **Ricardo Dias de Castro**, meu grande orientador, por todo aprendizado e crescimento proporcionados, pela paciência com o meu processo de aprendizagem. Pela atenção, incentivo e cuidado durante os caminhos percorridos desde a graduação. Por ter sido fundamental para que chegasse até aqui.

À minha co-orientadora, **Isabella Lima Arrais Ribeiro**, por ter sido fonte de auxílio e inspiração, por acreditar na interdisciplinaridade e pelo direcionamento dado desde o início do planejamento da pesquisa.

À **Universidade Federal da Paraíba**, por ter proporcionado a minha formação acadêmica, desde a graduação.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia**, pela oportunidade de um novo aprendizado.

Ao **Centro Universitário de João Pessoa - UNIPÊ**, em nome da pessoa de **Bárbara Limioni Leite**, coordenadora do Biotério, pela cordialidade em disponibilizar o laboratório do biotério para execução dos experimentos.

Aos Profs. **Paulo Bonan, Cassiano Nonaka e Ana Cláudia Medeiros**, pelas importantes contribuições dadas nas análises do estudo.

À **Universidade Estadual da Paraíba**, por ter contribuído no processo de desenvolvimento da pesquisa.

As colegas, **Elba, Tereza, Ísis, Danielle e Rejane**, pela ajuda, incentivo e magnífica parceria durante os experimentos e pelos conhecimentos compartilhados durante todo o processo da pesquisa. Extremamente grata por cada contribuição.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela bolsa de estudos concedida.

EPÍGRAFE

*“Tudo tem o seu tempo determinado e há
Tempo para todo propósito debaixo do céu.
Tempo de plantar e tempo de colher.”*

Eclesiastes 3:1.

RESUMO

Introdução: A mucosite oral (MO) é um dos efeitos adversos da quimioterapia e ao mesmo tempo a condição frequentemente relacionada à morbidade e mortalidade de pacientes em terapia antineoplásica. **Objetivo:** Avaliar os aspectos clínicos, histológicos e o consumo alimentar em ratos *wistar* com mucosite oral induzida por quimioterápico tratado com uma solução de multicomponente. **Metodologia:** Uma amostra probabilística de 24 ratos *wistar* machos e adultos passaram pelo processo de indução de mucosite oral com o quimioterápico 5-Fluororacila e foram ratados de acordo com os seguintes grupos: Grupo 1, controle negativo (n=8, uso de soro fisiológico); Grupo 2, controle positivo (n=8, uso de digluconato de clorexidina a 0,12%); e o Grupo 3, experimental (n=8, uso da solução de multicomponente) 4 vezes por dia com duração de 60 segundos. Após o período de tratamento (5^o ao 8^o dia), os animais foram submetidos às análises clínica e histológica a partir de fragmentos da mucosa biopsiados excisionalmente da fórnice vestibular dos incisivos inferiores. Os dados foram analisados por estatística descritiva e inferencial com nível de significância de 5%. **Resultados:** Foi observada melhora clínica significativa ($p < 0,05$) nos grupos que fizeram utilização de digluconato de clorexidina 0,12% e solução de multicomponente, quando comparados ao grupo soro fisiológico. A avaliação da reepitelização revelou, para o grupo I, maior frequência do grau 1, ou seja, ausência de reepitelização (n=4; 57,1%). Já nos grupos II e III, foi observada prevalência do grau 2, ou seja, reepitelização que recobre <50% da ferida. A avaliação do infiltrado inflamatório indicou que o tratamento do grupo I promoveu, em todos os animais, intensa semiquantificação da resposta inflamatória, e que este parâmetro de avaliação foi considerado moderado para os grupos II e III. A ingestão alimentar apresentou diferença estatística entre os grupos digluconato de clorexidina a 0,12% e solução multicomponente ($p < 0,05$). **Conclusão:** Conclui-se que a solução multicomponente promoveu melhora clínica e de parâmetros histológicos relacionados à severidade do processo inflamatório de lesões de mucosite oral induzida por quimioterápico em ratos *Wistar*, porém, não promoveu aumento na quantidade de alimento ingerido, quando comparados aos animais não tratados. A análise da térmica diferencial entre os insumos farmacêuticos ativos, em combinações binárias, presentes na solução indicou incompatibilidade.

Palavras-chaves: Mucosite oral, modelo animal, quimioterapia, solução

ABSTRACT

Introduction: Oral mucositis (MO) is one of the adverse effects of chemotherapy and at the same time the condition often related to the morbidity and mortality of patients on antineoplastic therapy. **Objective:** To evaluate clinical, histological and food intake in *wistar* rats with oral mucositis induced by chemotherapy treated with a multicomponent solution. **Methods:** A probabilistic sample of 24 male and adult *Wistar* rats underwent oral mucositis induction with 5-fluorouracil chemotherapy and were rats according to the following groups: Group 1, negative control (n=8, use of saline solution); Group 2, positive control (n=8, use of chlorhexidine digluconate 0.12%); and Group 3, experimental (n=8, use of multicomponent solution) 4 times a day with duration of 60 seconds. After the treatment period (5th to 8th day), the animals were submitted to clinical and histological analyzes from fragments of the mucosa excisionally biopsied from the vestibular fornix of the lower incisors. Data were analyzed by descriptive and inferential statistics with a significance level of 5%. **Results:** A significant clinical improvement ($p < 0.05$) was observed in the groups that used chlorhexidine digluconate 0.12% and multicomponent solution when compared to the saline group. The evaluation of reepithelialization revealed, for group I, a higher frequency of grade 1, that is, absence of reepithelialization (n=4; 57.1%). In groups II and III, prevalence of grade 2 was observed, that is, reepithelialization that covered <50% of the wound. The evaluation of the inflammatory infiltrate indicated that the treatment of group I promoted in all animals an intense semiquantification of the inflammatory response and that this parameter of evaluation was considered moderate for groups II and III. Food intake presented a statistical difference between the chlorhexidine groups 0.12% and multicomponent solution ($p < 0.05$). **Conclusion:** It was concluded that the multicomponent solution promoted clinical improvement and histological parameters related to the severity of the inflammatory process of oral mucositis lesions induced by chemotherapy in *Wistar* rats, but did not promote an increase in the amount of food ingested when compared to treated. The analysis of the thermal differential between the active pharmaceutical inputs, in binary combinations, present in the solution indicated incompatibility.

Keywords: Oral mucositis, animal model, chemotherapy, solution

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MO: Mucosite Oral

5-FU: 5-fluorouracila

i.p: Intraperitoneal

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

HNL: Hospital Napoleão Laureano

DTA: Análise Térmica Diferencial

IFA: Insumos Farmacêuticos Ativos

CN: Controle Negativo

CP: Controle Positivo

µL: Microlitros

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

RNA: Ácido Ribonucleico

OMS: Organização Mundial de Saúde

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

INCA: Instituto Nacional do Câncer

DTG: Termogravimetria Derivada

H&E: Hematoxilina e Eosina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. CAPÍTULO 1.....	4
Introdução.....	6
Materiais e métodos.....	8
<i>Animais.....</i>	<i>8</i>
<i>Considerações éticas.....</i>	<i>8</i>
<i>Produtos químicos e preparação dos fármacos.....</i>	<i>8</i>
<i>Delineamento amostral.....</i>	<i>9</i>
<i>Delineamento metodológico.....</i>	<i>10</i>
<i>Indução da mucosite oral.....</i>	<i>10</i>
<i>Tratamento da mucosite oral.....</i>	<i>10</i>
<i>Alimentação.....</i>	<i>10</i>
<i>Avaliação clínica.....</i>	<i>10</i>
<i>Avaliação histológica.....</i>	<i>11</i>
<i>Análise térmica diferencial.....</i>	<i>12</i>
<i>Estudo de compatibilidade.....</i>	<i>12</i>
<i>Análise estatística.....</i>	<i>12</i>
Resultados e Discussão.....	13
Conclusão.....	23
Referências.....	24
3. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	28
4. CONCLUSÃO.....	29
5. REFERÊNCIAS.....	30
6. ANEXOS.....	33

1. INTRODUÇÃO

O câncer é caracterizado pelo crescimento descontrolado e pela disseminação de células anormais, que continuam a se reproduzir e apresentam a característica de mortalidade até que formem uma massa de tecido conhecida como tumor. O câncer pode ocorrer em vários sítios e requer diferentes métodos de controle (CHAVELI-LOPÉZ et al., 2014).

Segundo as estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2030, são esperados 27 milhões de casos incidentes, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas vivas com câncer. Um fato importante a se observar é que a maior parte do ônus global do câncer pode ser observada em países em desenvolvimento, principalmente aqueles com poucos recursos. No Brasil, estimativas para 2013 foram alarmantes com previsão de ocorrência de aproximadamente 518.510 casos novos de câncer, incluindo os casos de pele não melanoma, reforçando a magnitude do problema do câncer no país (INCA, 2013).

O crescente número de novos casos de câncer em todo o mundo tem despertado o desenvolvimento de novas terapias, equipamentos e medicamentos antineoplásicas. Porém, observa-se que os protocolos de radioterapia, as drogas quimioterápicas e a associação concomitante destas terapias continuam causando diversos efeitos colaterais indesejáveis, como náuseas, vômitos, diarreias, alopecia, mielossupressão, imunossupressão e mucosite oral (CSORDAS et al., 2014; LIU et al., 2014; TULSYAN et al., 2014).

O 5-fluorouracila (5-FU) é um dos fármacos mais utilizados na poliquimioterapia do câncer. É um antimetabólito, antagonista das pirimidinas, que inibe a biossíntese do DNA e do RNA. O principal problema decorrente do 5-FU e dos demais fármacos utilizados na quimioterapia são os seus efeitos sobre células e tecidos normais. Esta é uma preocupação clínica pelo fato de que alguns desses efeitos se tornam um fator limitante e acabam por comprometer a eficácia da quimioterapia. Entre esses efeitos adversos, a mielossupressão e disfunção digestiva são os mais comuns e que comumente acabam por afetar outros parâmetros clínicos (YAO et al., 2013)

A mucosite radio ou quimioinduzida é frequente e vem sendo estudada há muito tempo, devido à sua morbidade. A idade, estado geral do paciente, local e tipo de tratamento oncológico são variáveis que modulam o surgimento da mucosite. Na boca,

a mucosite ainda sofre influência dos cuidados anteriores com os tecidos bucais, da presença de doença periodontal, de traumas oclusais, das adaptações protéticas e grau de higiene (SURESH et al., 2016).

A mucosite oral pode atingir diferentes graus de severidade, chegando, em algumas circunstâncias, a interromper o tratamento oncológico proposto, colocando em risco seu potencial curativo, aumentando o estado de morbi/mortalidade dos pacientes afetados (SILVA et al., 2015).

Segundo Raber-Durlacher et al. (2010), o desenvolvimento da mucosite depende de uma série de fatores, relacionados à terapia e às características do paciente. Alguns fatores potenciais de risco foram identificados como o tipo, dose e horário da aplicação sistêmica de medicamentos citotóxicos, a dose de radiação e de campo, e o uso concomitante da quimioterapia e da radiação. O tratamento pode afetar a prevalência e a severidade da mucosite. Outros fatores podem influenciar a gravidade da mucosite como infecções orais durante a hospitalização e reativação de vírus latentes.

Sabe-se que a mucosite é uma lesão epitelial e subepitelial, comprometendo a capacidade do tecido de se regenerar, e que se desenvolve em cinco fases: (1) iniciação, (2) resposta inicial ao dano, (3) sinalização e amplificação de sinais, (4) ulceração e (5) cicatrização ou cura. (SONIS et al., 2004). Na fase epitelial ocorre redução da renovação das células em função da radioterapia e da quimioterapia, ocasionando ulceração do epitélio. Quando ocorre a colonização por micro-organismos e intensificação das lesões se estabelece a fase ulcerativa propriamente dita. Por último ocorre a fase curativa, que corresponde à renovação celular e posterior cicatrização da mucosite. (SCHIRMER; FERRARI; TRINDADE; 2012).

A literatura científica descreve alguns tratamentos paliativos para a mucosite e incluem cuidados com a higiene oral, bochechos com soluções antissépticas e agentes antimicrobianos para evitar infecções secundárias, uso de anti-inflamatórios, analgésicos tópicos e sistêmicos para alívio da dor, antioxidantes tópicos, agentes de proteção e revestimento da mucosa, vitaminas e crioterapia com a utilização de cubos de gelo (LALLA et al., 2014, NICOLATOU-GALITIS et al., 2013). A maioria desses estudos não apresenta resultados consistentes e as terapias testadas não trazem grandes benefícios para a prevenção e/ou tratamento da mucosite. Consequentemente, a pesquisa por novas terapias que atuem não somente no alívio

dos sintomas, mas também na prevenção e na redução efetiva da mucosite oral é de extrema importância.

Pensando nisso, inúmeros são os protocolos de manejo da mucosite descritos na literatura (CHENG; CHANG; YUEN, 2010; LIMA et al., 2012; RODRIGUES et al., 2017). Contudo, a maioria apresenta-se com limitações apenas com procedimentos preventivos, sendo escassas as condutas de caráter terapêutico.

Nesta perspectiva, uma metanálise da literatura evidenciou ser eficaz para o tratamento da mucosite oral a utilização da laserterapia de baixa potência e de soluções para bochecho a base de antimicrobianos (CARNEIRO-NETO et al., 2016). Porém, a eficácia de outros fármacos, com ação anti-inflamatória e analgésica, por exemplo, ainda não foi estabelecida, impulsionando o desenvolvimento de investigações que colaborem para o avanço do conhecimento científico nessa área.

Considerando que unidades de saúde de referência para o tratamento do câncer, muitas vezes, estabelecem seus próprios protocolos para tratamento e prevenção da mucosite oral quimioinduzida, faz-se estratégico evidenciar a ação da solução contendo associação de multicomponente, proposta por uma dessas unidades, frente ao tratamento da mucosite oral, formulada com soro fisiológico 0,9%, nistatina, dexametasona, difenidramina, morfina, lidocaína 2% e complexo B. (RIBEIRO et al., 2015; COSTA et al., 2018).

Diante disto, o conhecimento da utilização da solução contendo associação de multicomponente em hospital de referência para o tratamento oncológico do manejo da mucosite oral impulsionou a elaboração e execução dessa proposta de pesquisa, que busca fomentar o desenvolvimento de intervenções efetivas durante o suporte ao paciente oncológico. Nesse sentido, esta investigação objetivou, a partir da realização de estudo não clínico (*in vivo*), avaliar parâmetros clínicos e histológicos em animais (ratos *wistar*) tratados com uma solução multicomponente utilizada em um hospital de referência para tratamento de câncer, conforme descrito por Ribeiro et al. (2015) e Costa et al. (2018).

2. CAPÍTULO I

O manuscrito a seguir será submetido para publicação no periódico “**Oral Diseases**”.

Título do manuscrito: Efeito de uma solução tópica oral de multicomponente no tratamento da mucosite oral quimioinduzida em Ratos *Wistar*.

Autores: RRT Limeira¹, ILA Ribeiro², PF Bonan³, DN Alves¹, ES Ferreira⁴, TKVL Costa¹, CFW Nonaka⁵, ACD Medeiros⁵, FB Sousa³, AMG Valença³, RD Castro³.

1. Mestranda. Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal da Paraíba – UFPB, 58051-085, João Pessoa-PB, Brasil.

2. Doutora. Programa de Pós-Graduação em Modelos de Decisão em Saúde, Universidade Federal da Paraíba – UFPB, 58051-085, João Pessoa-PB, Brasil.

3. Docente. Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, 58051-085, João Pessoa - PB, Brasil.

4. Doutoranda. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba – UFPB, 58051-085, João Pessoa-PB, Brasil.

5. Docente. Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba - UFPB, 58429-500, Campina Grande - PB, Brasil.

Financiamento: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

Conflito de interesse: Sem conflito de interesse.

Contribuições dos autores: RRT Limeira contribuiu para concepção e desenho, coleta de dados, análise e interpretação, redigiu e revisou o manuscrito; ES Ferreira, DA Nóbrega e TKVL Costa contribuiu para a coleta de dados; CFW Nonaka, AND Medeiros, PRF Bonan e ILA Ribeiro, contribuíram para o desenho, interpretação dos dados, análise estatística e revisão crítica do manuscrito; FB Sousa realizou o delineamento amostral; RD Castro contribuiu com a concepção e design, análise e interpretação dos dados, revisou o manuscrito.

RESUMO

Introdução: A mucosite oral (MO) é um dos efeitos adversos da quimioterapia e ao mesmo tempo a condição frequentemente relacionada à morbidade e mortalidade de pacientes em terapia antineoplásica. **Objetivo:** Avaliar os aspectos clínicos, histológicos e o consumo alimentar em ratos *wistar* com mucosite oral induzida por quimioterápico tratado com uma solução de multicomponente. **Metodologia:** Uma amostra probabilística de 24 ratos *wistar* machos e adultos passaram pelo processo de indução de mucosite oral com o quimioterápico 5-Fluororacila e foram ratados de acordo com os seguintes grupos: Grupo 1, controle negativo (n=8, uso de soro fisiológico); Grupo 2, controle positivo (n=8, uso de digluconato de clorexidina a 0,12%); e o Grupo 3, experimental (n=8, uso da solução de multicomponente) 4 vezes por dia com duração de 60 segundos. Após o período de tratamento (5^o ao 8^o dia), os animais foram submetidos às análises clínica e histológica a partir de fragmentos da mucosa biopsiados excisionalmente da fôrnice vestibular dos incisivos inferiores. Os dados foram analisados por estatística descritiva e inferencial com nível de significância de 5%. **Resultados:** Foi observada melhora clínica significativa ($p < 0,05$) nos grupos que fizeram utilização de digluconato de clorexidina 0,12% e solução de multicomponente, quando comparados ao grupo soro fisiológico. A avaliação da reepitelização revelou, para o grupo I, maior frequência do grau 1, ou seja, ausência de reepitelização (n=4; 57,1%). Já nos grupos II e III, foi observada prevalência do grau 2, ou seja, reepitelização que recobre <50% da ferida. A avaliação do infiltrado inflamatório indicou que o tratamento do grupo I promoveu, em todos os animais, intensa semiquantificação da resposta inflamatória, e que este parâmetro de avaliação foi considerado moderado para os grupos II e III. A ingestão alimentar apresentou diferença estatística entre os grupos digluconato de clorexidina a 0,12% e solução multicomponente ($p < 0,05$). **Conclusão:** Conclui-se que a solução multicomponente promoveu melhora clínica e de parâmetros histológicos relacionados à severidade do processo inflamatório de lesões de mucosite oral induzida por quimioterápico em ratos *Wistar*, porém, não promoveu aumento na quantidade de alimento ingerido, quando comparados aos animais não tratados. A análise da térmica diferencial entre os insumos farmacêuticos ativos, em combinações binárias, presentes na solução indicou incompatibilidade.

Palavras-chaves: Mucosite oral, modelo animal, quimioterapia, solução

Introdução

A mucosite oral (MO) é um efeito adverso agudo importante na cavidade oral em pacientes submetidos à quimioterapia e/ou radioterapia, sendo considerada a causa mais comum de morbidade e mortalidade¹. As lesões bucais podem levar a uma diminuição considerável da qualidade de vida nestes pacientes ocasionando dificuldade na alimentação, dor ou ardor ao engolir e má coordenação dos músculos da fala. Além disso, as lesões podem representar uma porta de entrada para infecções oportunistas^{2,3}.

Quando do tratamento quimioterápico, a MO apresenta prevalência de 40% e, quando há combinação com a radioterapia, ocorre um aumento na taxa para, aproximadamente, 100%⁴. A manifestação de danos diretos à membrana da mucosa e infecção secundária na região oral colabora para o aparecimento da MO⁵, que são, respectivamente, decorrentes da produção de espécies reativas de oxigênio e da depressão imunológica associada à mielossupressão⁶.

Do ponto de vista clínico, a mucosite oral induzida por quimioterapia é caracterizada como uma lesão eritematosa, com presença de edema ou ulceração, que podem ser acompanhados por alterações que vão desde sensação de queimação discreta a grave^{7,8}. Sintomas como transtornos alimentares e do sono, dificuldades de comunicação, bem como a dor aguda, também estão associados à doença e ocasionam redução da qualidade de vida dos indivíduos acometidos⁹. Em algumas situações pode provocar perda de consciência e cessação forçada do tratamento¹⁰.

A literatura científica descreve alguns tratamentos paliativos para a mucosite e incluem cuidados com a higiene oral⁹, bochechos com soluções antissépticas e agentes antimicrobianos para evitar infecções secundárias¹⁰, uso de anti-inflamatórios¹¹, analgésicos tópicos e sistêmicos para alívio da dor¹², antioxidantes tópicos¹³, agentes de proteção e revestimento da mucosa com vitaminas do complexo B¹¹ e crioterapia¹². A maioria desses estudos não apresenta resultados consistentes e as terapias testadas não trazem grandes benefícios para a prevenção e/ou tratamento da doença. Consequentemente, a pesquisa por novas terapias que atuem não somente no alívio dos sintomas, mas também na prevenção e na redução efetiva da mucosite oral é de extrema importância.

Um estudo de metanálise evidenciou que a utilização da laserterapia de baixa potência e de soluções para bochecho a base de antimicrobianos, especialmente digluconato de clorexidina a 0,12%, são eficazes para o tratamento da mucosite oral¹³. Porém, a eficácia de outros fármacos, com ação anti-inflamatória, analgésica e

cicatrizante, por exemplo, ainda não foi estabelecida, impulsionando o desenvolvimento de investigações que colaborem para o avanço do conhecimento científico nessa área.

A escassez de informações consistentes para adoção de protocolos validados para o tratamento de mucosite oral induzida por quimioterapia, impulsiona unidades de saúde de referência para o tratamento do câncer a estabelecerem seus próprios protocolos para tratamento e prevenção da doença. Uma dessas propostas terapêuticas inclui a utilização de uma solução multicomponente para bochechos diários^{14,15}.

Diante disto, objetivamos avaliar o efeito de uma solução contendo associação de multicomponente, proposta por um hospital de referência para tratamento de câncer^{14,15}, no manejo da mucosite oral induzida por quimioterápico em ratos *wistar* a partir de avaliações clínica e histopatológica, bem como a mensuração da quantidade de alimento ingerido durante o tratamento.

Materiais e Métodos

Animais. Foram utilizados 24 ratos *Wistar* machos, com idade entre 90 a 100 dias, com peso médio de 300 gramas obtidos do Biotério do Centro Universitário de João Pessoa, Paraíba, Brasil. Os animais foram alojados em dupla por gaiola, em uma sala mantida sob luz padronizada (ciclo claro-escuro de 12h) em um ambiente com temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade de $60 \pm 10^\circ\text{C}$, e com acesso livre a ração e água potável.

Considerações éticas. O projeto de pesquisa foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba, sob nº 6464080318. O método de eutanásia considerou pré-anestesia com acepromazina (4 mg/kg) e cloridrato de cetamina (150 mg/kg), por via intramuscular, e cloridrato de xilazina (11 mg/kg), por via intraperitoneal, em dose suficiente para eliminar o reflexo corneal¹⁶. Após a ausência do reflexo corneal, foram administrados 2 mmol/kg de cloreto de potássio (via intravenosa) e os ratos foram eutanasiados por deslocamento cervical^{17,18}.

Produtos químicos e preparação dos fármacos.

- *Quimioterápico.* 5-FU (Fauldfluor[®] 2,5g/50mL, LIBBS Farmacêutica Ltda., São Paulo - SP, Brasil) diluído em soro fisiológico e administrado na dose de 30mg/kg/dia por via intraperitoneal.

- *Indutor de lesão oral por aplicação tópica.* Ácido acético a 20% ($\text{C}_2\text{H}_3\text{COOH}$, 99,7%, NEON Farmacêutica Ltda., São Paulo - SP, Brasil) administrado na dose de 100uL.

- *Substância de referência.* Digluconato de Clorexidina 0,12% (Periogard[®], Reymer, Goiânia - GO, Brasil) administrado na dose de 100uL.

- *Solução de multicomponente.* Medicamentos utilizados para preparação da solução multicomponente experimental administrado na dose de 100uL, descritos a seguir:

Componente	Fórmula molecular	Quantidade	Ação
Nistatina (Micostatin®, Bristol-Myers Squibb Farmacêutica S.A. - São Paulo – SP, Brasil)	C ₄₇ H ₇₅ NO ₁₇	20ml	Antifúngica
Dexametasona (Decadron®, Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A. Guarulhos – SP, Brasil)	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	1 ampola de 1mL	Anti-inflamatória
Difenidramina (Difenidrin®, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda. - Butantã - São Paulo-SP, Brasil)	C ₁₇ H ₂₁ NO	1 ampola de 1mL	Anti-histamínica
Morfina (Dimorf®, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda. - Butantã - São Paulo-SP, Brasil)	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	1 ampola de 1mL	Analgésica
Lidocaína 2% (Xylocaína®, Hipolabor Farmacêutica Ltda. Borges /Sabará – MG, Brasil)	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	10ml	Anestésica (local)
Vitaminas do Complexo B (Complexo B Medquímica®, Medquímica Indústria Farmacêutica S.A. - Juiz De Fora – MG, Brasil)	C ₆ H ₆ ON ₂	1 ampola de 1mL	Adjuvante no reparo tecidual
Soro Fisiológico 0,9% (Cloreto de Sódio 0,9%, Pro Soro Dauf Indústria Farmacêutica S.A, Brasil)	NaCl	250mL	Veículo

Fonte: Protocolo de tratamento da mucosite oral utilizado por um hospital de referência para tratamento de câncer¹⁴.

Delineamento amostral. A definição do tamanho da amostra foi conduzida segundo o teste ANOVA de um fator (One-way). Para o cálculo amostral foi estimada a maior proporção para aceitar o tratamento, sendo este dado obtido a partir de um estudo prévio que determinou a eficácia clínica da laserterapia, método alternativo, de eficácia comprovada, para tratamento de mucosite oral¹⁹. O delineamento amostral adotou um nível de confiança de 95% (erro alfa unicaudal = 5%), poder do estudo de 80% (1 – β) e uma magnitude de efeito (g de hedge) de 1,3, resultando na composição de cada grupo experimental por 8 animais.

Delineamento metodológico. A investigação é caracterizada como estudo *in vivo*, controlado, randomizado e duplo cego. Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos:

Grupo I: Controle negativo, composto por 8 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e receberam solução fisiológica a 0,9%.

Grupo II: Controle positivo, composto por 8 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e receberam tratamento com digluconato de clorexidina a 0,12%.

Grupo III: Grupo experimental, composto por 8 animais que passaram pelo protocolo de indução de mucosite e receberam tratamento com a solução de multicomponente.

Indução da MO. A fim de mimetizar a imunossupressão induzida por drogas antineoplásicas, os ratos receberam uma injeção intraperitoneal de 5-FU (30mg/kg/dia) nos 1º, 2º e 3º dias do experimento. Posteriormente, no 4º dia do experimento, para formação das úlceras na região de fôrnice vestibular do incisivo inferior, foi utilizado um papel filtro de 9 mm² embebido com ácido acético a 20% (100uL), que foi aplicado durante 60 segundos em cada animal, de acordo com técnica preconizada²⁰.

Tratamento da MO. O tratamento da mucosite oral ocorreu a partir do 5º dia, sendo conduzido até o 8º dia do experimento, após a indução da mucosite. As soluções dos grupos I, II, e III foram administradas a cada 4 horas, em uma quantidade de 100uL aplicados com auxílio de um material absorvente estéril por 60 segundos, com intervalo da não utilização de 12 horas diárias (8:00 PM – 08:00 AM), durante os 4 dias.

Alimentação. Todos os animais foram alimentados de forma controlada pelo pesquisador, administrando-se a quantidade de 100g/dia/gaiola de ração ao início de cada dia, durante todo o experimento, e pesando no dia seguinte (período de 24h) a ração residual, para verificar a quantidade que os animais haviam ingerido^{21,22}, visto que os principais sinais e sintomas da mucosite oral causam dor e dificuldade para ingestão de alimentos²³.

Avaliação Clínica. As lesões de MO foram avaliadas nos dias 5, 6, 7 e 8, a partir de registros fotográficos com máquina digital (Canon EOS T5i) de boa resolução (12.3 MP) e objetiva de trinta e cinco - oitenta milímetros (35-80mm) com focagem automática. A avaliação clínica da severidade da mucosite foi realizada a partir da observação das fotografias obtidas, que foram previamente embaralhadas, codificadas e analisadas de maneira cega por um único examinador a partir dos parâmetros

descritos no quadro 1. Essa análise foi realizada duas vezes pelo mesmo examinador, com intervalo de um mês, para que haja uma correta calibração (κ : 0,87).

Quadro 1 – Classificação clínica da mucosite (Sonis et al., 2000)²⁴.

Classificação da mucosite	Características clínicas da mucosa
Grau 0	Mucosa saudável
Grau 1	Presença de eritema discreto, sem sinais de erosão
Grau 2	Eritema severo, vasodilatação e erosão superficial
Grau 3	Formação de úlceras restritas a 25% da superfície total
Grau 4	Formação de úlceras abrangendo 50% da região
Grau 5	Completa ulceração da mucosa

Avaliação histológica. Após a finalização dos experimentos, todos os animais foram eutanasiados. Os espécimes obtidos a partir de biópsia excisional do fórnice vestibular dos incisivos inferiores foram fixados em formol tamponado a 10% e incluídos em parafina. Sequencialmente as peças anatômicas foram coradas em hematoxilina e eosina (HE). Sob microscopia de luz (Leica DM500, Leica Microsystem Vertrieb GmbH, Wetzlar, DE), um examinador previamente treinado e com formação em estomatopatologia realizou a análise histomorfológica dos espécimes. O grau de reepitelização das feridas foi avaliado de acordo com os critérios propostos por Meireles *et al.*²⁵ (2008) (Quadro 2). A intensidade do infiltrado inflamatório nos tecidos foi analisada com base nos critérios propostos por Souza *et al.*²⁶ (2013) (Quadro 3).

Quadro 2 - Escores e respectivos critérios utilizados para análise do processo de reepitelização, de acordo com Meireles et al., (2008)²⁵.

Escores	Reepitelização
0	Ausente
1	Presente, recobrindo < 50% da ferida
2	Presente, recobrindo > 50% da ferida
3	Presente e com espessura irregular, recobrindo 100% da ferida
4	Presente e com espessura regular, recobrindo 100% da ferida

Quadro 3 - Escores e respectivos critérios utilizados para análise da intensidade da resposta inflamatória, de acordo com Souza et al., (2013)²⁶.

Escores	Semiquantificação da resposta inflamatória	Classificação da resposta inflamatória
0	Ausente	Ausente
1	Discreta	Crônica (predomínio de linfócitos e macrófagos)
2	Moderada	
3	Intensa	
4	Intensa	Subaguda (equilíbrio entre neutrófilos, linfócitos e macrófagos)
5	Intensa	Aguda (predomínio de neutrófilos)

Análise Térmica Diferencial (DTA). A análise térmica diferencial foi realizada utilizando um analisador térmico simultâneo da marca Shimadzu, modelo termogravimetria derivada (DTG), sendo estabelecidos os seguintes parâmetros: cadinhos de alumínio fechado, massa de 2,0 mg ($\pm 0,1$) de cada amostra, atmosfera de nitrogênio com fluxo do gás controlado em 50mL/min. As curvas termoanalíticas foram realizadas no intervalo temperatura de 25 a 450 °C, com razão de aquecimento de 10 °C/min. Os dados foram analisados utilizando o software TASYs da Shimadzu.

Estudo de Compatibilidade. As compatibilidades entre os insumos farmacêuticos ativos (IFA) foram realizadas, avaliando o comportamento térmico dos medicamentos isoladamente e em misturas binárias. As misturas binárias foram obtidas na proporção de 1:1. A avaliação da compatibilidade foi realizada com base nos descritos por Fernandes et al²⁷.

Análise Estatística. Os dados obtidos a partir das pesagens das rações individuais foram registrados em uma plataforma do Microsoft Excel e analisados por estatística descritiva e inferencial (teste de normalidade de Shapiro-Wilk (os valores relacionados aos pesos das rações tiveram distribuição normal para todos os dias de avaliação em todos os grupos experimentais); teste T-pareado e ANOVA One-Way com medidas repetidas), ao nível de significância de 5% no software IBM SPSS (21.0). Os escores obtidos da avaliação da reepitelização e do infiltrado inflamatório foram submetidos à análise estatística pelo teste de Kruskal-Wallis e pos-teste de Student-Newman-Keuls.

Resultados e Discussão

Apesar dos avanços no tratamento do câncer, a quimioterapia continua a ser uma das modalidades de tratamento mais amplamente utilizada, isoladamente ou em combinação com outros tipos de tratamentos. O grande inconveniente da quimioterapia é a falta de seletividade, uma vez que atua sobre as células tumorais e células normais desencadeando efeitos citotóxicos^{9,10,11}. Existem diferentes protocolos para quimioterapia e radioterapia utilizados para o tratamento do câncer, que podem ser utilizados isoladamente ou concomitante, dependendo do tipo do tumor²⁸.

Neste estudo, utilizamos o quimioterápico fluoruracila (5-FU) (LIBBS[®], São Paulo, Brasil) para o protocolo de quimioterapia. Esta droga é amplamente prescrita em casos de tratamento de cânceres de mama, de cabeça e de pescoço²⁹. Atualmente, o 5-FU é utilizado em combinação com outras drogas, a exemplo de bussulfano e metotrexato, com a finalidade de melhorar a taxa de resposta antineoplásica³⁰.

A administração prévia de 5-FU (30mg/kg/dia, i.p.) e aplicação tópica do ácido acético (20%) promoveram a formação de MO induzida, com apresentação de úlceras que abrangeram de 50% da região ou completa ulceração da mucosa na aplicação, confirmando a validação do protocolo proposto para indução experimental da lesão descrito em estudo prévio³¹.

Em todos os grupos, o protocolo de indução de mucosite provocou mortalidade em 12,5% da amostra. A taxa de mortalidade encontrada pode estar relacionada à maior severidade da mucosite, já que os animais estudados neste experimento não tinham o câncer em desenvolvimento e as únicas alterações sistêmicas foram devidas à infusão intraperitoneal do fármaco antineoplásico e à indução tópica adicional com ácido acético na mucosa oral. Segundo o National Institute of Health, os pacientes submetidos a terapias contra o câncer podem desenvolver mielo e imunossupressão devido à ação do agente quimioterápico nas células da medula óssea³². Durante o experimento, observou-se que alguns animais ficaram debilitados, com sinal clínico de alopecia, infecção associada à mucosite e diminuição no consumo alimentar.

Pela escala proposta²⁴, todos os grupos iniciaram o protocolo de tratamento (5º dia) com graus de MO similares, variando entre os escores 4 e 5, que indicam, respectivamente, a formação de úlceras abrangendo 50% da região e completa ulceração da mucosa. Ao comparar todos os grupos em cada tempo experimental observa-se que há diferença entre os animais que utilizaram soro fisiológico (grupo I) e os demais nos dias 7 e 8, com melhora clínica significativa ($p < 0,05$) nos grupos que

fizeram utilização de digluconato de clorexidina 0,12% (grupo II) e solução experimental de multicomponente (grupos III). Esses dados são apresentados no quadro 4.

Quadro 4 – Parâmetro clínico, definido com graus de severidade da lesão, avaliado durante o tratamento de mucosite oral induzida por quimioterápicos em ratos *wistar* com diferentes protocolos terapêuticos. Valores expressos em mediana.

GRUPOS	DIAS			
	5º	6º	7º	8º
	Graus de severidade			
Soro fisiológico	4	4	5	5
Digluconato de clorexidina 0,12%	4	5	3*	2*
Solução multicomponente	5	5	4*	3*

≠ Valores de mediana não diferem dos valores mínimos e máximos em cada grupo experimental.

* Diferença significativa observada quando os valores são comparados com os do início do tratamento e do grupo controle (soro fisiológico) ao final do tratamento (8º dia). $p < 0,05$, Teste Kruskal-Wallis.

A evolução da mucosite oral ocorreu conforme descrito em outros trabalhos publicados na literatura^{11,33}, os animais iniciaram com um quadro clínico completo de ulceração da mucosa por volta do 4º dia após aplicação do quimioterápico. Após o 3º (7º dia do experimento) dia de tratamento, foi observada melhora clínica significativa para os grupos tratados com digluconato de clorexidina a 0,12% e solução multicomponente. Estudos prévios^{14,15} indicam que a remissão completa das lesões/cicatrização ocorre de 5 a 14 dias após o início do protocolo.

As análises histológicas no último dia do experimento foram realizadas para cada grupo separadamente. Para o grupo tratado com soro fisiológico não foi observado processo de reepitelização em todos os animais. Já nos grupos tratado com digluconato de clorexidina a 0,12% e com a solução de multicomponente houve predomínio do processo de reepitelização recobrando menos que 50% da ferida. A análise estatística indicou ausência de diferença significativa entre os grupos experimentais ($p=0,2654$, teste Kruskal-Wallis). Os dados referentes à análise histológica para avaliação do processo de reepitelização estão expressos no quadro 5.

Quadro 5 - Graus de reepitelização e presença de infiltrado inflamatório em lesões de mucosite oral induzida por quimioterápico, em ratos *Wistar*, tratadas com soro fisiológico (Grupo I), digluconato de clorexidina a 0,12% (Grupo II) ou solução multicomponente (Grupo III).

GRUPOS	GRAU DE REEPITELIZAÇÃO	n (%)	GRAU DE INFILTRADO INFLAMATÓRIO	n (%)
I	Ausente	4 (57,1%)	Moderado	2 (28,6%)
	Reepitelização que recobre < 50% da ferida	3 (42,9%)	Intenso	5 (71,4%)
II	Ausente	2 (28,6%)	Moderado	5 (71,4%)
	Reepitelização que recobre < 50% da ferida	4 (57,1%)	Intenso	2 (28,6%)
	Reepitelização que recobre > 50% da ferida	1 (14,3%)		
III	Ausente	1 (14,3%)	Moderado	7 (100,0%)
	Reepitelização que recobre < 50% da ferida	6 (85,7%)		

Na análise do processo de reepitelização, para todos os casos analisados, foi constatada área de descontinuidade do revestimento epitelial, recoberta por material eosinofílico de aspecto fibrinoide. No interior do referido material fibrinoide, foram observadas quantidades variáveis de colônias de microrganismos. Estes achados podem ser observados na Figura 1. Alguns estudos apontam que a quimioterapia atua em células de rápida proliferação da camada basal do epitélio, causando a perda da habilidade do tecido em renovar-se. As ulcerações da mucosa, que estão associadas com a mucosite oral, são uma consequência desses eventos^{34,35}. Portanto, sugere-se que o referido processo é facilitado pelo trauma e ação de microrganismos patogênicos orais.

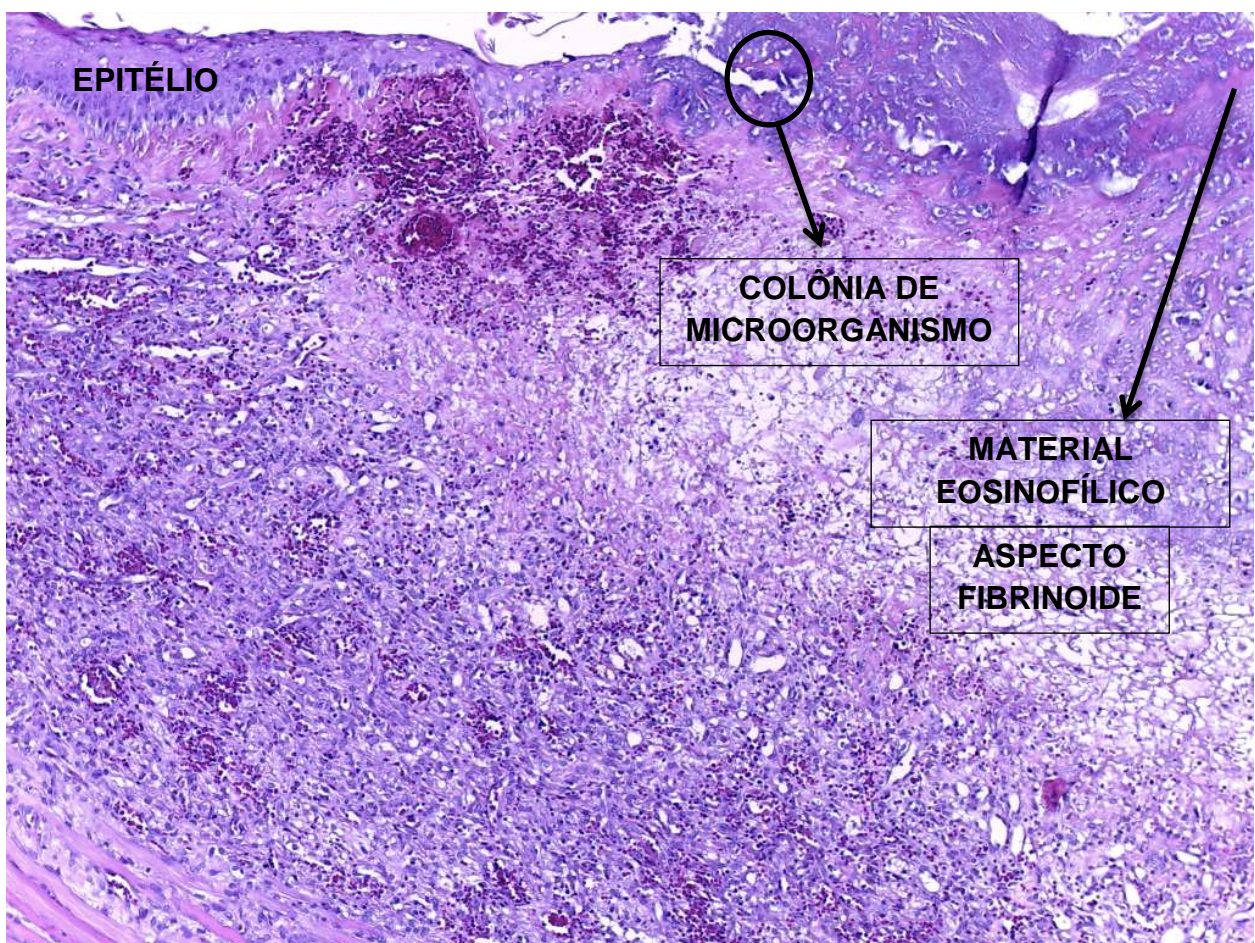


Figura 1. Imagem em H&E do corte histológico da mucosa oral dos animais, após tratamento, detalhando a reepitelização.

A avaliação do infiltrado inflamatório indicou que o tratamento com soro fisiológico promoveu predominância de resposta inflamatória intensa. Entretanto, conforme apresentado no quadro 5, a maioria dos animais tratados com digluconato de clorexidina a 0,12% e todos submetidos à solução de multicomponente apresentaram cortes histológicos caracterizados por um moderado infiltrado inflamatório. A análise estatística indicou que houve melhora significativa apenas para o grupo de animais tratados com a solução multicomponente, quando comparados com o grupo submetido ao soro fisiológico (Teste Kruskal-Wallis e post-teste Student-Newman-Kewls, $p=0,0237$).

Na avaliação do infiltrado inflamatório, em todos os grupos, o tecido conjuntivo subjacente ao tecido epitelial foi caracterizado por exuberante reação de granulação, caracterizada por fibroblastos de núcleos volumosos e vasos sanguíneos neoformados, alguns dos quais exibindo lúmen inconspícuo. Os elementos descritos anteriormente se apresentaram dispostos em meio a fibras colágenas delgadas e alongadas, arranjadas

de forma predominantemente frouxa e permeadas por infiltrado inflamatório mononuclear, constituído por linfócitos e macrófagos. Em regiões superficiais do tecido conjuntivo, não revestidas por tecido epitelial, foram observadas áreas de infiltrado inflamatório neutrofílico. Estes achados podem ser observados na Figura 2.

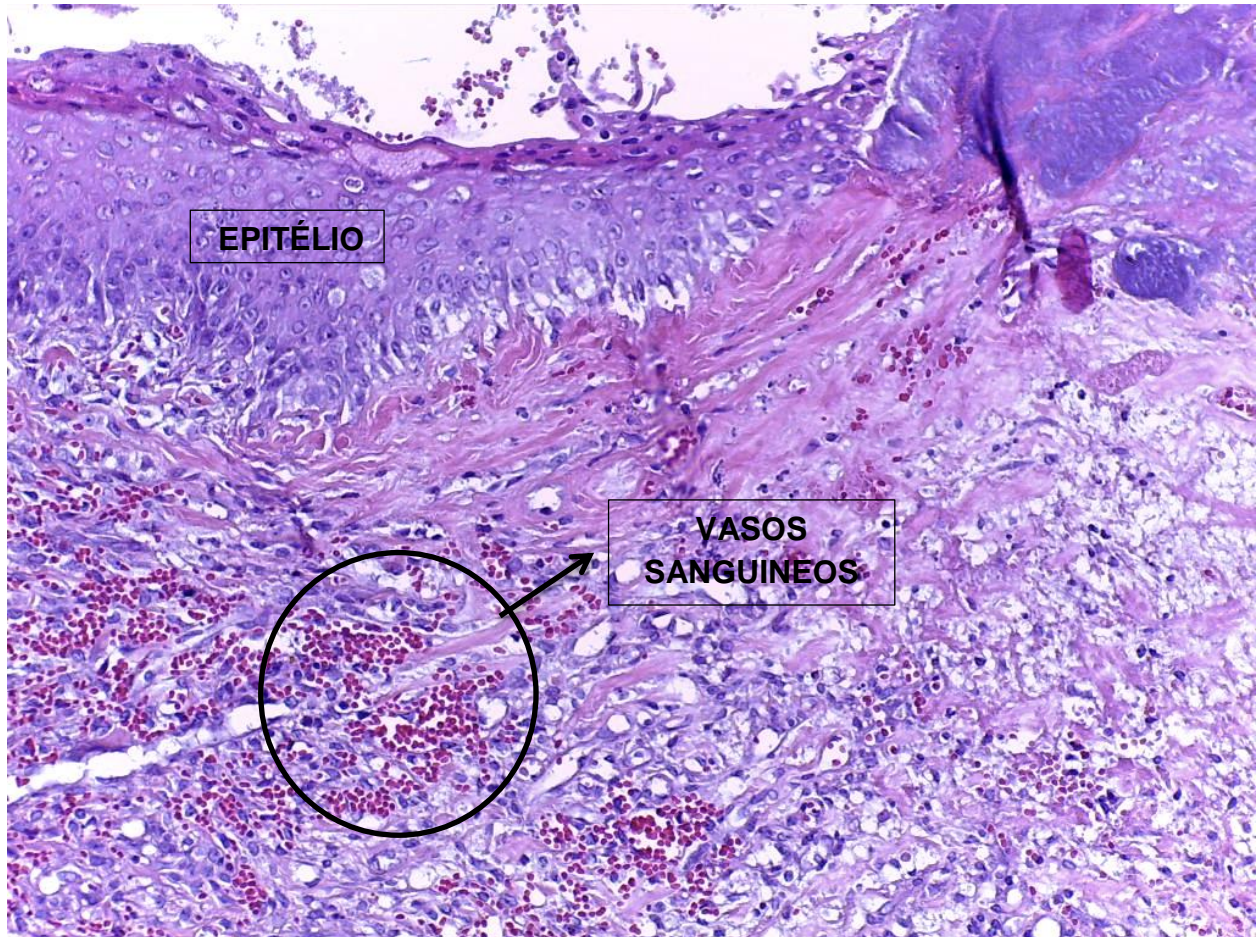


Figura 2. Imagem em H&E do corte histológico da mucosa oral dos animais, após tratamento, detalhando a resposta inflamatória.

Para melhor compreensão das repercussões clínicas observadas nos animais tratados com diferentes protocolos, foi avaliada a quantidade de alimento ingerido pelos mesmos durante todo o período de condução do experimento. A Figura 3 é a representação gráfica da evolução das médias da ração consumida em função dos dias do experimento. As curvas de consumo são semelhantes para os grupos de digluconato de clorexidina 0,12% e solução multicomponente, acarretando uma diminuição no 5º dia para todos os grupos, apresentando uma variação de consumo até o último dia do experimento, mas com uma tendência de diminuição da ingestão alimentar por todos os animais.

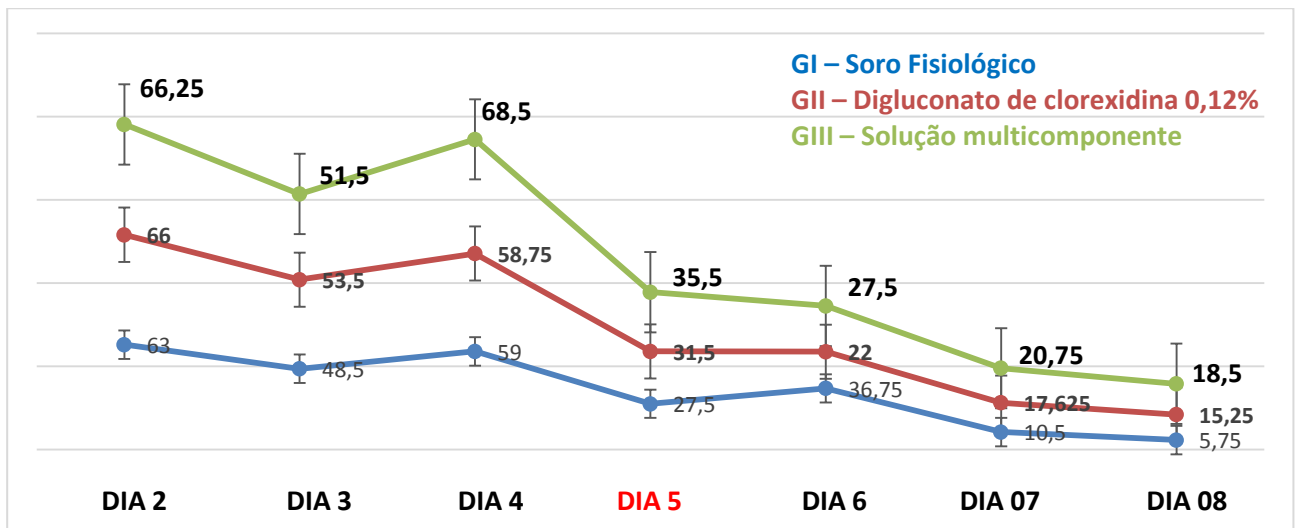


Figura 3. Análise do consumo alimentar em função dos dias de tratamento em ratos *Wistar* com lesão de mucosite oral induzida por quimioterápico submetidos a diferentes tipos de tratamento.

Em relação à ingestão alimentar observou-se que logo após à quimioterapia houve um aumento de ingestão de ração nos grupos. Entretanto, na última pesagem da ração todos os grupos apresentaram diminuição significativa do consumo de ração ($p < 0,05$, teste ANOVA One-Way com medidas repetidas). Estes achados corroboram com os descritos na literatura, que apontam que dentre os principais sinais e sintomas da mucosite oral destaca-se a dificuldade de alimentação^{9,20}.

Ao realizar comparação entre os grupos em função do consumo de ração, pode-se perceber que a ingestão alimentar foi semelhante em todos os grupos quando observados nos diferentes tempos experimentais, apresentando diferença estatística significativa ($p < 0,05$) somente nos dias 4 e 5, com uma diminuição progressiva do consumo de ração (Tabela 1). Esta análise é importante pois segundo Sacono et al. (2007)³⁶, a medida do consumo médio de ração acompanha a evolução da severidade clínica da mucosite

Tabela 1. Comparação das médias de consumo alimentar por dia de experimento entre os grupos experimentais.

DIA	GRUPO	Média ± SD	Sig.
DIA 02	G1	63,00 ± 1,68	0,379
	G2	66,00 ± 1,87	
	G3	66,25 ± 3,30	
DIA 03	G1	48,50 ± 2,66	0,413
	G2	53,50 ± 3,20	
	G3	51,50 ± 1,44	
DIA 04	G1	59,00 ± 4,02 ^a	0,003
	G2	58,75 ± 2,72 ^a	
	G3	85,50 ± 6,02 ^b	
DIA 05	G1	27,50 ± 0,64 ^A	0,002
	G2	30,00 ± 0,91 ^A	
	G3	35,50 ± 1,65 ^B	
DIA 06	G1	36,75 ± 8,60	0,271
	G2	22,00 ± 2,97	
	G3	27,50 ± 5,20	
DIA 07	G1	10,50 ± 7,00	0,212
	G2	20,00 ± 1,58	
	G3	20,75 ± 2,21	
DIA 08	G1	5,75 ± 3,61	0,089
	G2	15,25 ± 3,96	
	G3	18,50 ± 3,50	

Legenda: SD = Desvio Padrão; Sig = Significância; ANOVA One-Way com teste de médias repetidas; Significância = 5%; Letras diferentes indicam diferença entre os grupos.

Além dos fatores relacionados à doença, aos animais e propostas terapêuticas avaliadas, consideramos importante compreender fatores relacionados aos medicamentos presentes na solução multicomponente a partir do estudo da compatibilidade dos mesmos pela análise térmica diferencial.

A tabela 2 apresenta os eventos endotérmicos e exotérmicos observados nas misturas binárias analisadas. Na solução de multicomponente proposta para tratamento da mucosite oral foram utilizados seis tipos diferentes princípios ativos: difenidramina, dexametasona, nistatina, complexo vitamínico B, lidocaína e morfina, foi possível observar que, todas as misturas binárias analisadas apresentaram possível incompatibilidade.

Tabela 2 – Análise térmica dos insumos farmacêuticos ativos da solução multicomponente.

Insumos Farmacêuticos Ativos	Evento		Incompatibilidade
	Temperatura do Pico (°C)	Entalpia (J/g)	
Difenidramina	170,83	-271,48	-
Dexametasona	228,85	-111,00	-
Nistatina	159,09	-6,39	-
*Polivitamínico	129,68	-2.550,00	-
Morfina	-	-	-
Lidocaína	80,17	-275,85	-
Dexametasona + Nistatina	168,46	-6,30	INC
Dexametasona + Lidocaína	84,10	-143,44	INC
Dexametasona + Difenidramina	147,10	-121,00	INC
Nistatina + Lidocaína	85,14	-151,00	INC
Nistatina + Difenidramina	146,42	-143,00	INC
Lidocaína + Difenidramina	84,77	-6,60	INC
Morfina + Dexametasona	106,40	-881,60	INC
Morfina + Difenidramina	129,42	-4.980,00	INC
Morfina + Lidocaína	129,13	-3.500,00	INC
Morfina + Nistatina	162,03	-76,66	INC
Morfina + Polivitamínico	103,12	-369,43	INC
Polivitamínico + Difenidramina	129,18	-9,35	INC
Polivitamínico + Dexametasona	107,83	-26.570,00	INC
Polivitamínico + Lidocaína	79,28	-3,56	INC
Polivitamínico + Nistatina	109,91	-1,89	INC

Legenda: INC – incompatível; *Polivitamínico = Complexo vitamínico B.

As associações binárias entre todos os insumos farmacêuticos ativos apresentaram incompatibilidade, uma vez que a soma dos resultados das curvas TG das misturas não correspondem aos valores das curvas individuais³⁷. Entretanto, pode-se observar, a partir dos ensaios biológicos, melhora clínica e diminuição do processo inflamatório, fato que impulsiona a compreensão dos efeitos farmacológicos promovidos pelos IFA da solução multicomponente.

A difenidramina está entre os principais anti-histamínicos de primeira geração que possui uma sedação importante e um bloqueio colinérgico³⁸, ou seja, a presença desse fármaco na solução multicomponente, administrada por via tópica, pode ser justificada pelo seu potencial em minimizar possíveis reações adversas promovidas pelos demais componentes da solução.

Considerando que a mucosite oral é um processo inflamatório, o uso da dexametasona, um corticosteróide que exerce sua função em todas as fases do processo inflamatório, colabora para o tratamento das ulcerações da mucosa, impedindo a progressão da resposta inflamatória e a destruição tecidual³⁸. Nesse

sentido, a sua presença é justificada na solução multicomponente, por agir diretamente sobre o tecido danificado.

A nistatina é um importante componente da solução, visto que apresenta eficácia no tratamento de infecções fúngicas, como a candidíase. Diante do aparecimento da mucosite oral, o uso da solução proposta contendo nistatina é recomendado com o intuito de prevenir ou tratar a evolução do quadro clínico³⁹.

A utilização dos complexos vitamínicos apresenta importante redução no grau e no alívio dos sintomas da mucosite oral, fato que pode estar associado à ação anti-inflamatória da solução de multicomponente^{14,40}, pois vitaminas do complexo B possui ação adjuvante no reparo tecidual.

Em razão da repercussão dos sintomas da mucosite na qualidade de vida dos pacientes, o uso de analgésicos e anestésicos locais é mencionado por alguns autores^{27,29,30}. Nos casos severos, analgésicos de ação central, como morfina, podem ser prescritos^{25,34}. Dentre os anestésicos locais, formulações com lidocaína são relatadas^{35,36}.

A morfina é um analgésico opióide que possui efeitos importantes no sistema nervoso central e sistema gastrintestinal. Por possuir toxicidade aguda e ser considerada droga de abuso, causadora de dependência e tolerância⁴¹, seu uso deve ser minimizado e sua presença na solução multicomponente deve ser reconsiderada. Além disso, a ausência de fármacos de acesso controlado favorece a prescrição e utilização do produto fora do ambiente hospitalar.

O uso da lidocaína para o alívio temporário da dor associada a pequenos traumas ocorre devido ao bloqueio da iniciação e condução do impulso nervoso, por diminuir a permeabilidade da membrana neuronal para os íons sódio. As soluções contendo lidocaína podem ser utilizadas isoladas ou em combinação. Ou seja, a anestesia tópica é uma escolha para uma ação paliativa da dor causada pela mucosite oral⁴².

O controle positivo neste estudo utilizou o digluconato de clorexidina 0,12%, que é a substância de referência para controle e tratamento de infecções orais superficiais. Ela atua na desorganização geral da membrana celular microbiana, inibindo suas enzimas específicas. No entanto, a existência de efeitos colaterais, tais como, mudança na coloração dos dentes, aumento dos depósitos calcificados supragengival e alterações no paladar têm contra indicado o uso prolongado⁴³. O presente estudo demonstrou que o digluconato de clorexidina não elimina totalmente as lesões de

mucosite oral, mas é capaz de diminuir sua frequência e severidade provavelmente por minimizar infecções secundárias.

Este foi o primeiro estudo experimental com modelo animal voltado avaliação do efeito de uma solução multicomponente, proposta por uma unidade de referência para tratamento de cânceres. Os resultados colaboram para a melhor compreensão de um possível protocolo medicamentoso voltado ao tratamento da mucosite oral induzida por quimioterápicos.

Do ponto de vista metodológico, sugere-se a realização de uma investigação que considere maior tempo de exposição às soluções avaliadas, bem como a proposição de uma solução multicomponente com substituição de princípios ativos que evidenciaram interação química ou apresentam destacáveis efeitos adversos, a exemplo de dependência química ou psicológica, tolerância e/ou imunossupressão.

Conclusão

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a solução multicomponente promoveu melhora clínica e de parâmetros histológicos relacionados à severidade do processo inflamatório de lesões de mucosite oral induzida por quimioterápico em ratos *Wistar*, porém, não promoveu aumento na quantidade de alimento ingerido, quando comparados aos animais não tratados. A análise da térmica diferencial entre os insumos farmacêuticos ativos, em combinações binárias, presentes na solução indicou incompatibilidade.

Referências

1. Zhang L, Yang X, Sun Z, Li J, Zhu H, Li J and Pang Y: Dendritic cell vaccine and cytokine-induced killer cell therapy for the treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Oncol Lett.* 2016; 11(4): 2605-2610.
2. Javadzadeh Bolouri A, Pakfetrat A, Tonkaboni A, Aledavood SA, Fathi Najafi M, Delavarian Z, Shakeri MT and Mohtashami A: Preventing and therapeutic effect of propolis in radiotherapy-induced mucositis of head and neck cancers: a triple-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Iran J Cancer Prev.* 2015; 8(5): 4019.
3. Hurria A, Browner IS, Cohen HJ, Denlinger CS, deShazo M, Extermann M, Ganti AK, Holland JC, Holmes HM, Karlekar MB, Keating NL, McKoy J, Medeiros BC, Mrozek E, O'Connor T, Petersdorf SH, Rugo HS, Silliman RA, Tew WP, Walter LC, Weir AB 3rd and Wildes T: Senior adult oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2012; 10(2): 162-209.
4. Panahi Y, Ala S, Saeedi M, Okhovatian A, Bazzaz N and Naghizadeh MM: Allopurinol mouth rinse for prophylaxis of fluorouracil-induced mucositis. *Eur J Cancer Care.* 2010; 19(3): 308- 312.
5. Bian L, Han G, Zhao CW, Garl PJ and Wang XJ: The role of SMAD7 in oral mucositis. *Protein Cell.* 2015; 6(3): 160-169.
6. Lopes-Serraio MD, Ussery SM, Hall RG 2nd and Shah SR: Evaluation of chemotherapy-induced severe myelosuppression incidence in obese patients with capped dosing. *J Oncol Pract.* 2011; 7(1): 13-17.
7. Yoshino F, Yoshida A, Nakajima A, Wada-Takahashi S, Takahashi SS and Lee MC: Alteration of the redox state with reactive oxygen species for 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *PLoS One.* 2013; 8(12): 82834.
8. Chavélli-Lopez B: Oral toxicity produced by chemotherapy: A systematic review. *J Clin Exp Dent.* 2014; 6: 81-90.
9. Caballero, R., Lagares, T., Garcia, R. et al. Cancer treatment--induced oral mucositis: a critical review. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2012; 41: 225-38.
10. Vieira DL, Leite AF, Melo NS, Figueiredo PTS. Tratamento odontológico em pacientes oncológicos. *Oral Sciences.* 2012; 4(2): 37-42.
11. Lalla RV, Bowen J, Barasch A, Elting L, Epstein J, Keefe DM, et al. Mascc/Iso. O clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. *Cancer.* 2014; 120 (10): 1453-61.
12. Nicolatou-Galitis O, Sarri T, Bowen J, Di Palma M, Kouloulis Ve, Niscola P, et al. Systematic review of anti-inflammatory agents for the management of oral mucositis in cancer patients. *Support Care Cancer.* 2013; 21(11): 3179-89.

13. Carneiro-Neto, C.; Moura, L.B.; Menezes, J. D. S.; et al., Estadiamento TNM para o tratamento de câncer bucal. *Rev. Odontologia (ATO)*. 2016; 16(3):100-108.
14. Ribeiro ILA, Valença AMG, Bonan PRF. Treatment of severe oral mucositis in a pediatric patient undergoing chemotherapy. *Rev Gaúcha Odontol*. 2015; 63 (4): 467-71.
15. Costa RC; Limeira RRT; Carvalho, LGA; Bonan PRF; Valença AMG; Ribeiro ILA. Associação terapêutica no manejo da mucosite oral quimioinduzida em pacientes pediátricos *Revista Família, Ciclos de Vida e Saúde no Contexto Social*. 2018; 6: 2.
16. Conceição-Silva F, Presgrava AOF. Fármacos usados em animais de laboratório. Anestésicos e analgésicos. *Manual de utilização de animais/Fiocruz*. Rio de Janeiro. 2008; 20-27.
17. American Veterinary Medical Association – AVMA. *Guidelines on Euthanasia*. Edition, 2013.
18. Damy SB, et al. Aspectos fundamentais da experimentação animal –aplicações em cirurgia experimental. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2010; 56, 1: 103-111.
19. Migliorati C, Hewson I, Lalla Rv et al., Systematic review of laser and other light therapy for the management of oral mucositis in cancer patients. *Support Care Cancer*. 2013; 21(1): 333-41.
20. Fujisawa K, Miyamoto Y, Nagayama M. Basic fibroblast growth factor and epidermal growth factor reverse impaired ulcer healing of the rabbit oral mucosa. *J Oral Pathol Med*. 2003; 32 (6): 358–66.
21. Andrigueto, JM. Normas e padrões de nutrição animal. Curitiba-Brasil: Nutrição editora e publicitária, 1986.
22. Guimarães, MA; Mázaró, T. Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2004.
23. Carvalho PAG, Pereira Júnior AJA, Negreiros WA. Avaliação da dor causada pela mucosite oral em pacientes oncológicos. *Rev Dor*. 2009; 10(1): 47-50.
24. Sonis ST, Peterson RL, Edwards LJ, Lucey CA, Wang L, Mason L, et al. Defining mechanisms of actions of interleukin-11 on the progression of radiation-induced oral mucosites in hamsters. *Oral Oncol*. 2000; 36(4): 373-81.
25. Meireles GC, Santos JN, Chagas PO, Moura AP, Pinheiro AL. Effectiveness of laser photobiomodulation at 660 or 780 nanometers on the repair of third-degree burns in diabetic rats. *Photomed Laser Surg* 2008; 26: 47-54.
26. Souza ICL, Nascimento MF, Souza Neta RG, Santos JC, Costa LP, Cardoso JC et al. Effect of the maltodextrin-induced chemical reticulation on the physical properties

and healing potential of collagen-based membranes containing Brazilian red propolis extract. *Int J Med Sci* 2013; 5: 514-524.

27. Wesolowski M, Rojek B. Thermogravimetric detection of incompatibilities between atenolol and excipients using multivariate techniques. *Journal Thermal Analysis and Calorimetric*. 2013, 113, 1: 169-177.

28. Patel A, Rajesh S, Chandrashekar VM, Rathnam S, Shah K. A rat model against chemotherapy plus radiation-induced oral mucositis. *Saudi Pharm J*. 2013; 21 (4): 399-403.

29. Van Kuilenburg AB, Maring JG. Evaluation of 5-fluorouracil pharmacokinetic models and therapeutic drug monitoring in cancer patients. *Pharmacogenomics*. 2013; 14 (7): 799-811.

30. Anghinoni M. Efeito da quimioterapia pré-operatória com 5-fluorouracil endovenoso na regeneração hepática induzida por hepatectomia extensa em ratos. Curitiba; 2013; 104.

31. Yosuke Shimamura, Issei Takeuchi, Hiroshi Terada and Kimiko Makino. A mouse model for oral mucositis induced by cancer chemotherapy. *Anticancer research*. 2018; 38: 307-312.

32. National Institute of Health. National Institutes of Health consensus development conference statement: oral complications of cancer therapies: diagnosis, prevention, and treatment. *J Am Dent Assoc*. 1989; 119: 179-83.

33. Campos Cruz MI, Campos CN, Monteiro F, Vieira BJ. A mucosite oral no tratamento do câncer: história natural, prevenção e tratamento. *Mol Clin Oncol*. 2014; 2 (3): 337-40.

34. Bowen JM, Gibson RJ, Keefe DM. Animal models of mucositis: implications for therapy. *J. Support Oncol*. 2011; 9: 161-8.

35. Sonis ST. The pathobiology of mucositis. *Nature Reviews* 2004; 4(4): 277- 84. Treister NS, Woo S-B. Chemotherapy-induced oral mucositis. *Medscape* [Internet].

36. Sacono NT, Costa CA, Bagnato VS, Abreu-E-Lima FC. Light-emitting diode therapy in chemotherapy-induced mucositis. *Lasers Surg Med*. 2008; 40: 625-33.

37. Oliveira MA, Yoshida MI, Gomes ECL. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. *Quim. Nova*. 2011; 34, 7: 1224-1230.

38. Wyngaarden JB, Seevers MH. The toxic effects of antihistaminic drugs. *JAMA* 1951; 145: 277-82.

39. Ribeiro, ILA et al.,. Dentistry in Pediatric Oncology 2. ed. Bilingue (Port/Ing). - João Pessoa: Ideia. 2018; 223.
40. Peres P, Queiroz A, Moreira M, Faquim J, Ferrari M. Pediatric dentistry applied to childhood cancer-clinical manifestations and protocol service. J Manage Prim Health Care. 2013; 4(3):191-9.
41. Júnior OR, Borba AM, Júnior JG. Prevenção e tratamento da mucosite bucal: o papel fundamental do cirurgião-dentista-revisão. Arch Oral Res. 2010; 6(1):57-62.
42. Madden Kirk L, Brown SD, Luu Y, Ogle A, Huffman J, Lewis PO. Beyond-use dating of lidocaine alone and in two" magic mouthwash" preparations. Am J Health System Pharm. 2017; 74 (9): 202-210.
43. Logan RM, Stringer AM, Bowen JM, Yeoh ASJ, Gibson RJ, Sonis ST, et al. The role of pro-inflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: Pathobiology, animal models and cytotoxic drugs. Cancer Treatment Reviews. 2007; 33 (5): 448-60

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A mucosite é gerada por radiação ou drogas quimioterápicas, que replicam o tratamento do câncer em pacientes. Ao longo dos anos, o modelo de radiação tem sido refinado e evoluiu para incluir a quimioterapia, a qual simula tratamento com drogas para pacientes com câncer. Em modelos animais in vivo, de modo geral, é observada alta taxa de morbidade e/ou mortalidade após a administração de agentes quimioterápicos (PATEL et al., 2014), dificultando o manejo dos animais durante todo o experimento.

Os animais do estudo desenvolveram mucosite oral induzida em decorrência da administração do 5-Fluorouracil em associação com ácido acético a 20%. Os modelos não clínicos são necessários para compreensão da patogênese da doença, porém os modelos atuais têm limitações inerentes. Por exemplo, alguns modelos exigem lesão mecânica para indução da ulceração. Em humanos, a mucosa não precisa ser ferida superficialmente para desenvolver a mucosite oral. As doses e agendamento da quimioterapia ou radioterapia, também não são necessariamente traduzíveis entre animais e seres humanos. Apesar das limitações dos modelos animais, esse tipo de estudo para avaliação do tratamento medicamentoso da mucosite oral e da dor associada é necessário para conhecer melhor a doença (VIET et al., 2014).

O fato dos ratos terem uma cavidade oral maior que a dos camundongos foi determinante em nossa escolha, apoiada em estudos anteriores que recomendam o uso desses animais em simulações de tratamentos de mucosite oral (CAMPOS et al., 2015; LIMA et al., 2015; YOSUKE et al., 2018).

Propõe-se o estabelecimento de uma nova proposta de terapia medicamentosa para o tratamento da mucosite oral induzida por quimioterápicos, a partir de combinações de fármacos que não evidenciem interação química negativa ou apresentem destacáveis efeitos adversos, a exemplo de dependência química ou psicológica, tolerância e/ou imunossupressão.

3. CONCLUSÃO

Conclui-se que a solução multicomponente promoveu melhora clínica e de parâmetros histológicos relacionados à severidade do processo inflamatório de lesões de mucosite oral induzida por quimioterápico em ratos *Wistar*, porém, não promoveu aumento na quantidade de alimento ingerido, quando comparados aos animais não tratados. A análise da térmica diferencial entre os insumos farmacêuticos ativos, em combinações binárias, presentes na solução indicou incompatibilidade.

REFERÊNCIAS

CARNEIRO-NETO, C. et al. **Estadiamento TNM para o tratamento de câncer bucal.** Rev Odontol (ATO), v. 16, n. 3, p. 100-8, 2016.

CAMPOS, Maria Ines Da Cruz et al. **Atorvastatin and trans-caryophyllene for the prevention of leukopenia in an experimental chemotherapy model in *Wistar* rats.** Molecular and clinical oncology, v. 3, n. 4, p. 825-828, 2015.

CHAVELI-LÓPEZ, B. **Toxicidade oral produzida por quimioterapia: uma revisão sistemática.** J Clin Exp Dent, v. 6, n. 1, p. 81-90, 2014.

CHENG KK-F, LEUNG S, LIANG RH, TAI JW, YEUNG RM, THOMPSON DR. **Severe oral mucositis associated with cancer therapy: impact on oral functional status and quality of life.** Support care cancer, v. 18, n. 11, p. 1477-85, 2010.

COSTA RC; LIMEIRA RRT; CARVALHO, LGA; BONAN PRF; VALENÇA AMG; RIBEIRO ILA. **Associação terapêutica no manejo da mucosite oral quimioinduzida em pacientes pediátricos.** Revista Família, Ciclos de Vida e Saúde no Contexto Social, v. 6, n. 2, 2018.

CSORDAS LK, LAUTNER-CSORBA O, SEMSEI AF, HAR-NOS A, HEGYI M, ERDELYI DJ, et al. **Associations of novel genetic variations in the folate-related and ARID5B genes with the pharmacokinetics and toxicity of high-dose methotrexate in paediatric acute lymphoblastic leukaemia.** British Journal of Haematology, 2014.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Ministério da Saúde.** Disponível em: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2013/inca_ministerio_saude_apresentam_estimativas_cancer_2014. Acesso em: 28 de set. 2018.

JAVADZADEH BOLOURI A, PAKFETRAT A, TONKABONI A, ALEDAVOOD SA, FATHI NAJAFI M, DELAVARIAN Z, SHAKERI MT AND MOHTASHAMI A: **Preventing and therapeutic effect of propolis in radiotherapy-induced mucositis of head and neck cancers: a triple-blind, randomized, placebo-controlled trial.** Iran J Cancer Prev, v. 8, n. 5, p. 4019, 2015.

LALLA RV1, BOWEN J, BARASCH A, ELTING L, EPSTEIN J, KEEFE DM, et al. **MASCC/ISO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy.** Cancer, v. 120, n. 10, p.1453-61, 2014.

LIMA AG, VILLAR RC, CASTRO G, ANTEQUERA R, GIL E, ROSALMEIDA MC, et al. **Oral mucositis prevention by low-level laser therapy in head-and-neck cancer patients undergoing concurrent chemoradiotherapy: a phase III randomized study.** Int J Radiat Oncol Biol Phys, v. 82, n. 1, p. 270-5, 2012.

LIMA, G.M.G.; SEVERO, M.C.; SANTANA-MELO, G.F.; CARVALHO M.A.; VILELAGOULART M.G.; SALGADO, M.A.C.; GOMES, M.F. **Amniotic membrane as a**

biological dressing for 5-fluoruracil-induced oral mucositis in rats. International Journal Oral Maxillofacial Surgery, v. 44, n. 7, p. 845-851, 2015.

LIU, L.; LI, P.; ZOU, Y.; LUO, K.; ZHANG, F.; ZENG, R. C.; LI, S. **In vitro corrosion and antibacterial performance of polysiloxane and poly (acrylic acid) / gentamicin sulfate composite coatings on AZ31 alloy.** Surface & Coatings Technology, v. 291, p. 7-14, 2016.

NICOLATOU-GALITIS O, SARRI T, BOWEN J, DI PALMA M, KOULOULIAS VE, NISCOLA P, et al. **Systematic review of anti-inflammatory agents for the management of oral mucositis in cancer patients.** Support Care Cancer, v. 21, n. 11, p. 3179-89, 2013.

PATEL, A.; PANCHAL, I.; SHAH, S.; SEN, D.J. **Preclinical and Clinical Aspects of Oral Mucositis: A Systemic Review.** World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v. 3, n. 2, p. 2548-2563, 2014.

RABER-DURLACHER JE *et al.* **Oral mucositis.** Oral Oncology, doi:10.1016/j.oraloncology.2010.03.012, 2010.

RIBEIRO, I.L.A, VALENÇA, A.M.G, BONAN, P.R.F, CARLO,F.G.C. **Oral monitoring of a pediatric patient during chemotherapy treatment.** Revista Cubana de Estomatologia, v.52, n.2, p.196-201, 2015.

RODRIGUES GH, JAGUAR GC, ALVES FA, GUOLLO A, CAMANDONI VO, DAMASCENA AS, et al. **Variability of high-dose melphalan exposure on oral mucositis in patients undergoing prophylactic low-level laser therapy.** Lasers Med Sci, v. 32, n. 5, p. 1089-95, 2017.

SCHIRMER EM, FERRARI A, TRINDADE LCT. **Evolução da mucosite oral após intervenção nutricional em pacientes oncológicos no serviço de cuidados paliativos.** Rev Dor, v. 13, n. 2, p. 141-6, 2012.

SILVA, L.C.; SACONO, N.T.; FREIRE, M.C.; COSTA, L.R.; BATISTA, A.C.; SILVA, G.B. **The Impact of Low-Level Laser Therapy on Oral Mucositis and Quality of Life in Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation Using the Oral Health Impact Profile and the Functional Assessment of Cancer Therapy-Bone Marrow Transplantation Questionnaires.** Photomed Laser Surg, v. 33, n. 7, p.357-363, 2015.

SONIS ST. **The pathobiology of mucositis.** Nature Reviews Treister NS, Woo S-B. Chemotherapy-induced oral mucositis. Medscape, v. 4, n. 4, p. 277-84, 2004.

SURESH, A.V.; VARMA, P.P.; SINHA, S.; DEEPIKA, S.; RAMAN, R.; SRINIVASAN, M.; et al. **Risk-scoring system for predicting mucositis in patients of head and neck cancer receiving concurrent chemoradio- therapy [rsm-hn].** J Cancer Res Ther, v. 6, n. 4, 448-451, 2016.

TULSYAN, S.; AGARWAL, G.; LAL, P.; MITTAL, B. **Significant role of CYP450 genetic variants in cyclophosphamide based breast cancer treatment outcomes: a multi-analytical strategy.** Clinica Chimica Acta, v. 434, p. 21–28, 2014.

VIET, C.T.; CORBY, P.M.; AKINWANDE, A.; SCHMIDT, B.L. **Review of Preclinical Studies on Treatment of Mucositis and Associated Pain.** Journal of Dental Research, v. 93, n. 9, p. 868-875, 2014.

YAO, Q.; YE, X.; WANG, L.; GU, J.; FU, T.; WANG, Y.; LAI, Y.; WANG, Y.; WANG, X.; JIN, H.; GUO, Y. **Protective effect of Curcumin on chemotherapy-induced intestinal dysfunction.** International journal of clinical and experimental pathology, v.6, n.11, p. 2342–2349, 2013.

YOSUKE SHIMAMURA, ISSEI TAKEUCHI, HIROSHI TERADA AND KIMIKO MAKINO. **A mouse model for oral mucositis induced by cancer chemotherapy.** Anticancer research v. 38, p. 307-312, 2018.

ANEXOS

ANEXO 1. Aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA



Universidade
Federal da
Paraíba

Comissão de Ética no
Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFICÁCIA DE SOLUÇÕES BUCAIS PARA TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL QUIMIOINDUZIDA EM RATOS WISTAR", protocolada sob o CEUA nº 6464080318 (ID 000172), sob a responsabilidade de **Ricardo Dias de Castro** e equipe; **Reinaldo Nóbrega de Almeida** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 25/05/2018.

We certify that the proposal "EFFECTIVENESS OF BUCAL SOLUTIONS FOR TREATMENT OF ORAL QUIMIOINDUZIDE MUCOSITE IN WISTAR RATS", utilizing 24 Heterogenics rats (24 males), protocol number CEUA 6464080318 (ID 000172), under the responsibility of **Ricardo Dias de Castro and team; Reinaldo Nóbrega de Almeida** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 05/25/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **05/2018** a **08/2018** Área: **Ciências Farmacêuticas**

Origem: **Unidade de Produção Animal IPeFarM**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **90 a 100 dias**

N: **24**

Linhagem: **Rattus Norvegicus - Wistar**

Peso: **290 a 300 g**

Local do experimento: Serão utilizados 24 ratos wistar, machos, com peso médio de 300 gramas e idade entre 90 a 100 dias (Figura 1) obtidos do Biotério Prof. Thomas George da Universidade Federal da Paraíba. Os animais serão transferidos para o local de experimentação, Laboratório de Psicofarmacologia do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da UFPB pelo menos 60 minutos antes da execução do experimento para minimizar possíveis alterações pelo novo ambiente. Os animais durante todo o experimento, com base no memorando nº 003/2018 aprovado em reunião no dia 02 de maio de 2018, permanecerão na Unidade de Produção Animal IPeFarM da Universidade Federal da Paraíba durante experimentação, e em caso de falha no sistema de climatização ou qualquer outro imprevisto, os animais serão relocados e mantidos no Biotério do Centro de Universitário de João Pessoa □ UNIPÊ que possui cadastro e estrutura física segundo normativa do CONCEA, e terão acesso à comida e à água administrada pelo pesquisador.

João Pessoa, 19 de setembro de 2018

Profa. Dra. Islania Gisela Albuquerque Gonçalves
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba