

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

MESTRADO EM ONCOLOGIA CLÍNICA, CÉLULAS TRONCO E TERAPIA CELULAR

**Avaliação da relação entre mucosite oral e a expressão de citocinas inflamatórias séricas
e salivares em pacientes submetidos ao Transplante Alogênico de Células Tronco
Hematopoiéticas**

Vanessa Tonetto Marques Galves

RIBEIRÃO PRETO

2023

Vanessa Tonetto Marques Galves

Avaliação da relação entre mucosite oral e a expressão de citocinas inflamatórias séricas e salivares em pacientes submetidos ao Transplante Alogênico de Células Tronco Hematopoiéticas

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de “Mestre em Ciências” do programa: Oncologia Clínica, Células-Tronco e Terapia Celular

Orientador: Prof. Dr. Leandro Dorigan de Macedo

RIBEIRÃO PRETO

2023

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca Central do Campus Administrativo de Ribeirão Preto/USP

Galves, Vanessa TM

Avaliação da relação entre mucosite oral e a expressão de citocinas inflamatórias séricas e salivares em pacientes submetidos ao Transplante Alogênico de Células Tronco Hematopoiéticas/ Vanessa Tonetto Marques Galves; Orientador: Leandro Dorigan de Macedo. - Ribeirão Preto, 2023

100 f

1. Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas. 2. Mucosite Oral. 3. Citocinas. 4. Saúde Bucal

FOLHA DE APROVAÇÃO

Galves, Vanessa TM

Avaliação da relação entre mucosite oral e a expressão de citocinas inflamatórias séricas e salivares em pacientes submetidos ao Transplante Alogênico de Células Tronco Hematopoiéticas

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de “Mestre em Ciências” do programa: Oncologia Clínica, Células-Tronco e Terapia Celular

Aprovado em: ___ / ___ / 2023

Banca Examinadora

Prof. Dr. Leandro Dorigan de Macedo

Instituição: Hemocentro

Assinatura: _____

Prof. Dra Manoela Domingues Martins

Instituição: UFRGS

Assinatura: _____

Prof. Dr. Fábio Luiz Coracin

Instituição: Hospital de Câncer de Barretos

Assinatura: _____

Trabalho realizado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP (FAEPA).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por toda saúde e proteção durante a realização deste trabalho, por me permitir viver e concluir mais essa etapa desafiadora da minha vida. Agradeço ao meu marido, Andersson, e aos meus pais, Alexandra e Renato, por todo suporte e incentivo constantes para me verem evoluir sempre.

Agradeço ao meu orientador Leandro, por todos os ensinamentos e conselhos dados desde a época da residência até o mestrado, que me fizeram evoluir muito como profissional e pessoa.

Agradeço também aos pós-graduandos Mariana Andrade Costa, Maria Julia Pagliarone e Thiago de Carvalho Reis por toda amizade e parceria durante a realização de todo esse trabalho.

Agradeço ao Serviço de Odontologia e Estomatologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, residentes e contratados por toda ajuda e apoio. E também à equipe multiprofissional do serviço de transplante de medula óssea do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto - USP por todo o suporte neste trabalho e dedicação para um tratamento de excelência para todos os pacientes que passam pelo serviço, em especial à equipe médica representada pela Dra. Thalita Cristina de Mello Costa e à equipe de enfermagem representada pelas enfermeiras Ana Carolina de Jesus Vieira e Camila Campos Mesquita.

Agradeço ao Prof. Alan Grupioni Lourenço, Gilberto André e Silva e à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP pelo auxílio nas etapas laboratoriais, por toda disponibilidade e paciência em ensinar.

Agradeço, em especial, a todos os pacientes e famílias que aceitaram fazer parte desta pesquisa, pois são os principais protagonistas deste trabalho.

E por fim, agradeço ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pelo financiamento deste trabalho – Código de Financiamento 001”.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAG - Anemia aplástica grave

alo-TCTH - Transplante alogênico de células tronco-hematopoiética

ATG - Imunoglobulina Anti-timocítica

BU – Bussulfano

CIR – Condicionamento de intensidade reduzida

CSA - Ciclosporina

CY - Ciclofosfamida

CPOD - Índice de dentes cariados, perdidos e obturados

Gy – Gray

HEMOG - Hemoglobinopatias Hereditárias

HLA - Antígeno leucocitário humano

ICT - Irradiação corpórea total

IL-1 β - Interleucina 1 β

IL-6 - Interleucina 6

IP - Índice de placa

LH – Linfoma de Hodgkin

LNH – Linfoma Não Hodgkin

LLA - Leucemia Linfóide Aguda

LMA – Leucemia Mieloide Aguda

LMC- Leucemia Mieloide Crônica

LF - lactoferrina

MA - Mieloablativo

MEL - Melfalano

MHC - Complexo principal de histocompatibilidade

MO- Mucosite Oral

MTX - Metotrexato

Não MA – Não Mieloablativo

NF- Neutropenia Febril

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase

PSR - Registro Periodontal Simplificado

SMD – Síndrome Mielodisplásica

SUS – Sistema Único de Saúde

TCTH -Transplante de células tronco hematopoiéticas

RESUMO

Galves, VTM. **Avaliação da relação entre mucosite oral e a expressão de citocinas inflamatórias séricas e salivares em pacientes submetidos ao Transplante Alogênico de Células Tronco Hematopoiéticas.** 2023. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

A Mucosite oral (MO) é um dos principais efeitos colaterais do transplante alogênico de células tronco-hematopoiética (alo-TCTH). O seu desenvolvimento é descrito em cinco etapas, desde os danos celulares gerados pela quimioterapia e/ou radioterapia até a etapa de cicatrização, sendo que o processo é mediado pela expressão de citocinas pró inflamatórias como TNF- α , IL-1 β , IL-8 e IL-6. Sua patogênese ainda não é completamente compreendida e estudos que avaliem a correlação entre a resposta inflamatória local e sistêmica ainda não foram desenvolvidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a correlação entre a expressão de citocinas inflamatórias em saliva e plasma com a apresentação clínica de mucosite oral em pacientes submetidos ao alo-TCTH. Estudo prospectivo longitudinal com pacientes submetidos ao primeiro alo-TCTH. As avaliações foram realizadas em dois tempos, T0 (pré condicionamento imediato) e T1 (momento de pior grau de mucosite oral). No T0 foram coletados: índices de saúde bucal - CPOD (dentes cariados, perdidos e obturados) e PSR (índice de saúde periodontal), Expressão de citocinas inflamatórias, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-8, lactoferrina e proteínas totais, em plasma e saliva.; enquanto no T1 foram coletados grau de mucosite oral (OMS), Expressão das mesmas citocinas inflamatórias em plasma e saliva. Foram testadas a correlação da diferença de expressão de citocinas inflamatórias entre T0 e T1, tanto para sangue, quanto para saliva, com o grau de mucosite oral. Foram incluídos 40 pacientes, com média de idade de 36.7 anos, com predomínio do sexo masculino (62.5%). Houve um discreto predomínio de doenças malignas (52.5%), o transplante aparentado idêntico teve um incidência de 47.5%. A maior parte dos pacientes apresentou mucosite leve (graus 0 a 2). E os índices de saúde bucal no período T0 foram variados, sendo que 57.5% dos pacientes apresentaram higiene oral insatisfatória, porém, apenas 2 pacientes apresentaram doença periodontal. Foram encontrados níveis elevados de TNF- α em sangue em T0 e T1, e de IL-6 em T1. Enquanto em saliva, foram encontrados níveis elevados de TNF- α , IL-6 em T1 e negligível de lactoferrina.

PALAVRAS - CHAVE: mucosite oral, citocinas inflamatórias, transplante de células tronco hematopoiéticas, doença periodontal, cárie.

ABSTRACT

Galves, VTM. **Evaluation of the expression of inflammatory cytokines in plasma and saliva of patients with oral mucositis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.** 2023. Dissertation (Masters) – University of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Oral mucositis (OM) is one of the main side effects of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). Its development is described in five stages, since cell damage caused by chemotherapy or radiotherapy to the healing stage, and the process is mediated by the expression of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α , IL-1 β , IL-8 and IL-6. Its pathogenesis is still not completely understood and studies that evaluate the correlation between the local and systemic inflammatory response have not yet been developed. The main purpose of this study was to evaluate the correlation between the expression of inflammatory cytokines in saliva and plasma with the clinical presentation of oral mucositis in patients undergoing allo-HSCT. Longitudinal prospective study with patients undergoing the first allo-HSCT. The evaluations were carried out at two times, T0 (immediate preconditioning) and T1 (moment of the worst degree of oral mucositis). At T0, the following were collected: oral health indices - DMFT (decayed, missing and filled teeth) and PSR (periodontal health index), expression of inflammatory cytokines, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-8 and lactoferrin in plasma and saliva; while in T1 were collected degree of oral mucositis (OMS), Expression of the same inflammatory cytokines in plasma and saliva. The correlation between the difference in expression of inflammatory cytokines between T0 and T1, both for blood and saliva, with the degree of oral mucositis was tested. Forty patients were included, with a mean age of 36.7 years, with a predominance of males (62.5%). There was a slight predominance of malignancies (52.5%), the identical related transplant had an incidence of 47.5%. Most patients had mild mucositis (grades 0 to 2). And the oral health indexes in the T0 period were varied, with 57.5% of the patients having unsatisfactory oral hygiene, however, only 2 patients had periodontal disease. Elevated levels of TNF- α were found in blood at T0 and T1, and of IL-6 at T1. While in saliva, high levels of TNF- α , IL-6 on T1 and negligible lactoferrin were found.

KEYWORDS: oral mucositis, inflammatory cytokines, hematopoietic stem cell transplantation, periodontal disease, carie.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E REVISÃO	14
1.1.	Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas	14
1.2.	Mucosite Oral	16
1.3.	Citocinas inflamatórias e Mucosite Oral	18
2.	OBJETIVOS	21
2.1.	Objetivos primários	21
2.2.	Objetivos secundários	21
3.	JUSTIFICATIVA	22
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1.	Desenho do estudo	23
4.2.	Variáveis de interesse	26
4.2.1.	Índices de saúde bucal	26
4.2.1.1.	Condição periodontal	23
4.2.1.2.	Condição dentária	27
4.2.1.3.	Avaliação de mucosite oral	27
4.2.1.4.	Avaliação da dor em cavidade oral	28
4.2.1.5.	Coleta, Processamento e definição do Fluxo Salivar	28
4.2.1.6.	Coleta e processamento de sangue	29
4.2.1.7.	Análise das Citocinas nas amostras de saliva e sangue	29
4.3.	Forma de análise dos resultados	31
5.	RESULTADOS	32
5.1.	Dados demográficos	32

5.2.	Comparação e correlação da expressão de citocinas em saliva e plasma entre T0 e T1 e entre si	37
5.3.	Correlação da expressão de citocina em plasma e saliva com o grau de Mucosite oral e escala de dor (VAS)	40
5.4.	Correlação da expressão de citocinas com índices de saúde bucal (CPOD e PSR).....	42
5.5.	Correlação entre as variáveis estudadas (idade, sexo, tipo de doador, compatibilidade ABO, fonte de células, tipo de condicionamento, compatibilidade HLA e doença de base) e a expressão de citocinas.....	47
5.6.	Avaliar os fatores de risco para o desenvolvimento de mucosite oral na amostra estudada.....	71
6.	DISCUSSÃO	73
7.	CONCLUSÃO	77
8.	BIBLIOGRAFIA	79
9.	APÊNDICES	84
10.	ANEXOS	98

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO

1.1. Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas

As células-tronco são células indiferenciadas presentes na medula óssea com capacidade de auto renovação e de diferenciação em tipos especializados, podendo desenvolver funções específicas no organismo²². Na hematopoiese, elas dão origem às células da linhagem mielóide, como eritrócitos, granulócitos, monócitos e plaquetas, e da linhagem linfóide, os linfócitos. O transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) tem por objetivo restabelecer a produção de células normais pela medula óssea afetada pelos quimioterápicos utilizados no condicionamento ²³.

O transplante de células tronco-hematopoética (TCTH) é um tratamento curativo para diversas doenças que envolvem a fisiologia da medula óssea, podendo ser utilizada para doenças autoimunes e, também, para neoplasias hematológicas e anemias aplásticas graves, aumentando consideravelmente a sobrevida de pacientes com essas patologias ^{1,2}. Ele é dividido didaticamente em três etapas: a primeira etapa é a fase pré enxertia, período entre o início do condicionamento e a enxertia neutrofilica; a segunda etapa, fase pós-enxertia precoce, ou seja, período entre a enxertia neutrofilica e o dia +100 (D+100); e a terceira etapa, fase pós-enxertia tardia, ou seja, após o D+100 ³².

Existem duas modalidades de transplante: o autólogo e o alogênico. No transplante autólogo de células tronco-hematopoiética, as células da medula óssea ou sangue periférico são provenientes do próprio paciente e é indicado principalmente para os alguns tipos de linfomas, doenças autoimunes e mieloma múltiplo ^{24,25}.

Já no transplante alogênico, as células da medula óssea são doadas por outro indivíduo e, principalmente indicado para tratamento de falências medulares e leucemias ^{24,25}. Além disso, ele pode ser classificado em aparentado, quando realizado entre indivíduos consanguíneos, ou não aparentado, quando proveniente dos bancos nacionais e internacionais de medula óssea. Porém, devido a uma carência de doadores compatíveis, o transplante haploidêmico tem ganhado notoriedade, nele a compatibilidade entre o doador e receptor é de 50% ou um pouco mais, sendo que neste caso, o doador é um familiar, preferencialmente pai, irmão, filho ou mãe ²⁶, e tendo por principal vantagem a rápida disponibilidade do doador. A coleta de células progenitoras pode acontecer através da aspiração da crista ilíaca posterior, pelo sangue periférico (neste caso, o doador recebe uma medicação via oral para estimular a produção de células da medula) ou pelo cordão umbilical ²⁷.

Anteriormente à infusão de células do doador, o paciente é submetido a uma quimioterapia intensa que irá causar aplasia medular, chamada de condicionamento. Os quimioterápicos que são utilizados variam de acordo com as características do paciente, como sua situação clínica, idade, tipo de doença, fonte de células, compatibilidade doador/receptor e grau de parentesco doador/receptor.

Os principais fármacos utilizados no condicionamento são: bussulfano (Bu), melfalano (Mel), ciclofosfamida (Cy), fludarabina (Flu), citarabina, etoposide, carmustina, carboplatina e gencitabina. Além disso, a quimioterapia também pode ser associada a radioterapia, irradiação de corpórea total (ICT) ²⁸.

A irradiação corporal total (ICT) é utilizada para destruir as células medulares do paciente, considerada parte do condicionamento. A radioterapia é realizada no corpo todo e a dose varia de 300 a 1200 cGy. Tem a vantagem de atingir locais que não são afetados pela quimioterapia, além da possibilidade de controlar a dose de irradiação e proteger órgãos vitais. O fracionamento reduz sua toxicidade, porém uma dose total acima de 500 cGy aumenta a possibilidade de efeitos citotóxicos ^{28,29}.

A partir dessas informações, o Centro Internacional de Pesquisa sobre Transplante de Medula e Sangue em 2006 classificou os regimes de condicionamento em três modalidades: *mieloablativo* ou de altas doses (MA), quando são utilizados agentes alquilantes (associados ou não com outros quimioterápicos) e/ou ICT em altas doses que irão provocar a falência medular a ponto de não permitir a recuperação hematológica de forma autóloga; *não-mieloablativos* (não-MA), quando utilizam quimioterápicos que causam certo grau de citopenia mas não requerem suporte de células tronco; e condicionamentos de intensidade reduzida (CIR), quando utilizam os agentes alquilantes e/ou ICT com dosagens reduzidas em até 30%^{30,31}.

De acordo com o condicionamento e a fase do transplante, as complicações podem ser classificadas em precoces, sendo as mais frequentes mucosite do trato gastrointestinal, infecções, sangramento, náusea, vômito, diarreias, doença do enxerto contra o hospedeiro aguda (DECHA) e falha de enxertia^{3,4,5}; e complicações tardias, com destaque para a doença do enxerto contra o hospedeiro crônica (DECHc).

1.2. Mucosite Oral

A incidência de mucosite oral (MO) varia de 47 a 100%, tem sido associada ao regime de condicionamento, idade, sexo e doença de base^{3,4,5}. Ela é caracterizada por lesões inflamatórias e/ou ulcerativas em mucosas oral e do trato gastrointestinal, os primeiros sinais aparecem durante o regime de condicionamento pré alo-TCTH e podem intensificar-se nas primeiras duas semanas do tratamento. Esta condição está diretamente relacionada à diminuição da qualidade de vida, ao aumento da necessidade do uso de analgésicos locais e sistêmicos e a necessidade de dieta parenteral.^{11,12,13,14}

Segundo Sonis^{3,6}, seu desenvolvimento pode ser descrito em cinco etapas, a primeira associada aos danos celulares, provocados pela quimioterapia e/ou radioterapia, que levam a apoptose de células epiteliais e de submucosa, assim como, a produção de espécies reativas de oxigênio. A fase subsequente, consiste na resposta do organismo aos danos primários em que há a ativação de vias de transdução para ativação de fatores de transcrição, como p53 e fator nuclear-kB, este último com papel significativo na fisiopatologia da MO. Conseqüentemente, há a produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, assim como, a produção de metaproteínases^{3,6,7,8,9}.

A terceira fase consiste na amplificação do sinal, em que as citocinas inflamatórias levam à exacerbação e prolongamento da lesão tecidual. Na fase de úlcera, ocorre a perda da integridade do epitélio, colonização e infiltração de bactérias nas lesões, causando uma reação tecidual e produção adicional de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-6 e IL-1 β ^{6,7,8,9}. A última fase caracteriza-se pela cicatrização, em que ocorre a proliferação e diferenciação celular geradas pela sinalização da matriz extracelular do tecido submucoso, levando a um espessamento epitelial ¹⁰.

Além disso, a literatura aponta que infecções pré-existentes em cavidade oral se tornam foco de infecção importante para complicações sistêmicas durante o período de neutropenia ²¹. Desta forma, o exame minucioso da cavidade oral e o tratamento odontológico antes do tratamento oncológico tem sido apontado como importante para a redução das complicações durante a neutropenia. Exames como Registro Periodontal Simplificado (PSR)^{15,16} e o registro do índice de dentes Cariados, perdidos e obturados (CPO-D)¹⁷ são utilizados, para estratificar a condição periodontal e avaliar história da condição dentária, respectivamente.

A associação entre a condição de saúde bucal e o grau de mucosite oral vem sendo estudada, alguns autores têm sugerido que a redução da taxa de microrganismos na cavidade oral, previamente à terapia oncológica, pode reduzir a gravidade das lesões de mucosite oral ²¹. Neste contexto, o controle de microbiota bucal é importante aliado na redução de risco de translocação bacteriana.

Em 2016, Chaudhry e colaboradores descreveram uma incidência de mucosite oral de 73% em pacientes submetidos ao condicionamento mieloablativo e de até 96% dos que realizaram ICT ⁵. Da mesma forma, Kröger e colaboradores, em 2002, e Mori e colaboradores, em 2006, relataram que os condicionamentos com agentes alquilantes, principalmente fludarabina (dosagem: 125–150 mg/m²) e melfalano (dosagem: 140–180 mg/m²), são os mais frequentemente associados ao desenvolvimento da mucosite oral, já que este tipo de quimioterápico impede a replicação do DNA celular de forma inespecífica ^{34,35}.

Apesar do conhecimento atual, o papel do evento inflamatório local e sistêmico na patogênese da mucosite oral associada à quimioterapia ainda não é completamente compreendido. O melhor entendimento desta relação permitirá a proposta de estratégias terapêuticas mais eficazes na prevenção e manejo da MO.

A última revisão da *MASCC* (A Multinational Association of Supportive Care in Cancer) sobre tratamento e prevenção de mucosite oral em 2020, destacou entre as principais recomendações ¹³:

- Higiene oral: recomendados orientação de higiene bucal e controle de placa com escovação e uso de fio dental, além de bochecho com solução de digluconato de clorexidina 0,12% e/ou solução de bicarbonato de sódio (grau III de evidência) .
- Laserterapia de baixa potência: recomendada a terapia de fotobiomodulação de maneira profilática e terapêutica, variando o comprimento de onda de acordo com cada caso (grau I de evidência) .
- Crioterapia: recomendada por 30 minutos para prevenção de mucosite oral em condicionamentos com altas doses de melfalano e 5-fluorouracil, quando administrado em *bolus* (grau II de evidência).
- Agentes antimicrobianos, protetores de mucosa, anestésicos e analgésicos: não foram recomendados por falta de estudos com nível de evidência suficiente.
- Fatores de crescimento tecidual: agente de crescimento de queratinócitos intravenoso foi recomendado em pacientes com neoplasia hematológica submetidos ao TCTH com regimes de condicionamento que incluem altas doses de quimioterapia e ICT (grau II de evidência). Porém, o uso tópico do Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos não foi recomendado, assim como o uso de glutamina parenteral devido à falta de evidência.

1.3. Citocinas inflamatórias e Mucosite Oral

A Interleucina 8 (IL-8) foi uma das primeiras quimiocinas descobertas e a sua expressão é influenciada por diversos estímulos, principalmente os estímulos que desencadeiam estresse celular, como a produção de espécies reativas de oxigênio, hipóxia, secreção de fatores pró inflamatórios (como, por exemplo, $TNF\alpha$ e $IL-1\beta$) ^{36,37}.

A Interleucina-1 β (IL-1 β) e o Fator de necrose tumoral ($TNF\alpha$) são proteínas solúveis produzidas por células com capacidade de estimular outras células alvos. A sua principal ação é como mediadoras de inflamação, induzindo as reações da fase aguda. Já a Interleucina 6 (IL-6) faz mediação em uma série de funções fisiológicas, como diferenciação de linfócitos e

potencialização de sinais apoptóticos. No dano tecidual, ela é sintetizada e faz a ativação da resposta imune aguda, induzindo a diferenciação de células B em plasmócitos produtores de anticorpos e estimula a ativação de células natural killers e a geração de linfócitos T citotóxicos³⁷.

Durante uma resposta primária do organismo aos quimioterápicos e radioterápico ocorre uma complexa série de reações envolvendo a quebra das fitas DNA e a geração das espécies reativas de oxigênio, isso faz com que sejam ativados fatores de transcrição (p53 e fator nuclear kB) e conseqüentemente o aumento da expressão de centenas de genes com efeito citotóxico à mucosa. Dessa forma, se inicia a produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF α , IL-1 β e IL-6³⁷.

Essas citocinas têm papel de amplificar esse sinal primário e/ou ativar fator nuclear kB de outras células, como as metaloproteinases de matriz nas células epiteliais e no tecido conjuntivo subjacente. Devido ao grande número de proteínas que se acumula nesses tecidos, ocorre a lesão do tecido e um feedback positivo amplifica a lesão inicial, prolongando o seu tempo de duração.

Em um estudo piloto no ano de 2022, Kiomy e colaboradores, avaliaram 18 pacientes oncológicos (12 com leucemia e 6 com carcinoma de cabeça e pescoço) em relação ao grau de mucosite oral, ressecamento de mucosa oral e mediadores inflamatórios em saliva através de coleta com swab em pontos chaves da boca. Seus resultados demonstraram que houve um aumento significativo de IL-6, IL-10 e TNF quando comparado antes e após início de mucosite oral, sendo que o TNF aumentou gradativamente de acordo com o aumento do grau de MO³⁸.

Em 2023, Xu J e colaboradores, correlacionaram a gravidade de MO induzida por radiação e citocinas inflamatórias em pacientes com câncer de cabeça e pescoço que foram submetidos a radioterapia e quimioterapia através da avaliação de saliva e descreveram que houve um aumento do nível salivar de IFN- γ , TNF- α , IL-2 e IL-6 em pacientes com MO grave, sendo que os níveis de IL-6 estavam positivamente relacionados com a gravidade da MO. Em contrapartida, os níveis de IL-10 e IL-4 tiveram relação oposta aos graus de MO³⁹.

Em 2014, Legert e colaboradores avaliaram a relação entre MO e os níveis de citocinas inflamatórias em soro e fluido crevicular gengival, em diversos regimes de condicionamento. Esse estudo demonstrou que houve correlação significativa entre a MO e o

condicionamento mieloablativo. Não houve diferença significativa dos níveis de citocinas em fluido crevicular nos três tempos coletados. Não houve correlação de citocinas em fluido crevicular gengival e em soro ⁴⁰.

Alguns outros estudos clínicos e de revisão de literatura voltados para avaliação de citocinas inflamatórias e mucosite em pacientes com câncer de cabeça e pescoço também demonstraram aumento de biomarcadores proteicos, principalmente IL1 β , IL6 e TNF α , de acordo com o grau de mucosite e risco de desenvolver lesões^{41,42,43}.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo primário

O objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão de citocinas inflamatórias, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-8, lactoferrina e proteínas totais, em saliva e plasma no pré-condicionamento (T0) e no pior momento da mucosite (T1) em pacientes submetidos ao transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas.

2.2. Objetivos secundários

- Comparar e correlacionar a expressão de citocina em saliva e plasma nos diferentes tempos do estudo e entre plasma e saliva;
- Avaliar a correlação da expressão de citocina em plasma e saliva com o grau de Mucosite oral e escala de dor (VAS);
- Correlacionar a expressão de citocinas com índices de saúde bucal (CPOD e PSR);
- Avaliar correlação entre as variáveis estudadas (idade, sexo, tipo de doador, compatibilidade ABO, fonte de células, tipo de condicionamento, compatibilidade HLA e doença de base) e a expressão de citocinas;
- Avaliar correlação entre as variáveis estudadas (idade, sexo, tipo de doador, compatibilidade ABO, fonte de células, tipo de condicionamento, compatibilidade HLA e doença de base) com MO e escala de dor (VAS);
- Avaliar os fatores de risco para o desenvolvimento de mucosite oral na amostra estudada.

3. JUSTIFICATIVA

O conhecimento da expressão de citocinas inflamatórias a nível local e sistêmico possibilitará melhor entendimento da fisiopatologia envolvida no desenvolvimento da mucosite oral, podendo subsidiar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas, métodos de diagnóstico e avaliação prognóstica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Desenho do estudo

Este foi um estudo longitudinal prospectivo, aprovado pelo CEP (CAAE: 56741322.4.0000.5440, **Anexo 1**) que avaliou pacientes internados na Unidade de Transplante de Células Tronco do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP. Todos os pacientes foram orientados sobre o trabalho, os riscos e benefícios, e caso houvesse concordância em participar, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Para os pacientes incapazes (idade entre 12 e 17 anos e 11 meses) o TCLE foi assinado pelos responsáveis legais e o paciente assinou o termo de assentimento (**Apêndices A e B**).

Foram incluídos pacientes com idade igual ou superior a 12 anos, submetidos ao primeiro transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas e que realizaram protocolo de atenção odontológica da Instituição em que o estudo foi desenvolvido. Os critérios de exclusão foram: pacientes com lesões em mucosa oral previamente ao início do condicionamento, com alterações neurológicas, psicomotoras e/ou doenças psiquiátricas que dificultassem a coleta de dados ou fluxo salivar não-estimulado.

As seguintes informações iniciais foram coletadas: idade, sexo, doença de base, comorbidades, regime de condicionamento, tipo de transplante, peso, fonte de células e medicações em uso. Os cuidados odontológicos para os pacientes seguiram o protocolo padrão definido na instituição: 1. Preparo para o transplante: tratamento odontológico para a resolução de focos de infecção e processos inflamatórios da cavidade oral + orientações de higiene oral; 2. Imediatamente antes do início do condicionamento: todos os pacientes receberam orientação e kit para higiene oral contendo escova, fio dental, dentífrício e antisséptico bucal padrões para o estudo; 3. Desde o início do condicionamento até a pega neutrofílica: visitas diárias, para orientação de higiene oral, diagnóstico precoce de lesões infecciosas em mucosa oral e demais cuidados. Nesta fase todos os pacientes receberam, como profilaxia para MO com aplicação de laser de baixa potência, para isso, foi utilizado um laser de diodo de baixa potência com aplicação pontual em toda mucosa oral, no seguinte protocolo: 1. Áreas sem lesão: laser vermelho com comprimento de onda de 660nm; 2. Áreas com lesão: laser infravermelho com comprimento de onda de 808nm. Em ambas as condições foram aplicados 10 segundos por ponto, com potência de 100mW, energia de 1J e densidade de energia de 33J/cm² (Laser DUO – marca MMO). Dessa forma, todos os pacientes do

estudo foram submetidos ao mesmo protocolo de atenção odontológica pelas etapas descritas no **Quadro 1**.

Quadro 1 - Etapas que compõem o protocolo de atenção odontológica.

ETAPA	MOMENTO DO TCTH	EXAMES REALIZADOS	PROCEDIMENTOS
Primeira avaliação	Indicação do TCTH	Clínico Radiografia panorâmica Radiografias intra-orais s/n Sondagem e exame periodontal	Plano de tratamento odontológico pré-TCTH com enfoque na resolução de focos de infecção e infecção ativa
Preparo bucal pré-TCTH	Entre a primeira avaliação e o início do condicionamento	Exames laboratoriais s/n	Periodontais Restauradores Cirúrgicos
Seguimento durante TCTH	Desde o início do condicionamento até enxertia neutrofílica	Coleta de exames complementares para diagnóstico de complicações infecciosas e/ou inflamatórias	Seguimento diário em enfermaria Exame clínico Orientação de higiene bucal Aplicação de laser de baixa potência para prevenção e tratamento de mucosite oral

s/n: se necessário

Todos os atendimentos médico e odontológico, resultados de índices clínicos de saúde bucal, resultados de exames laboratoriais e de imagem, monitoramento térmico e pressórico foram anotados em ficha clínica eletrônica de forma padronizada.

O estudo foi dividido em dois tempos:

- T0: imediatamente antes do início do condicionamento quimioterápico.

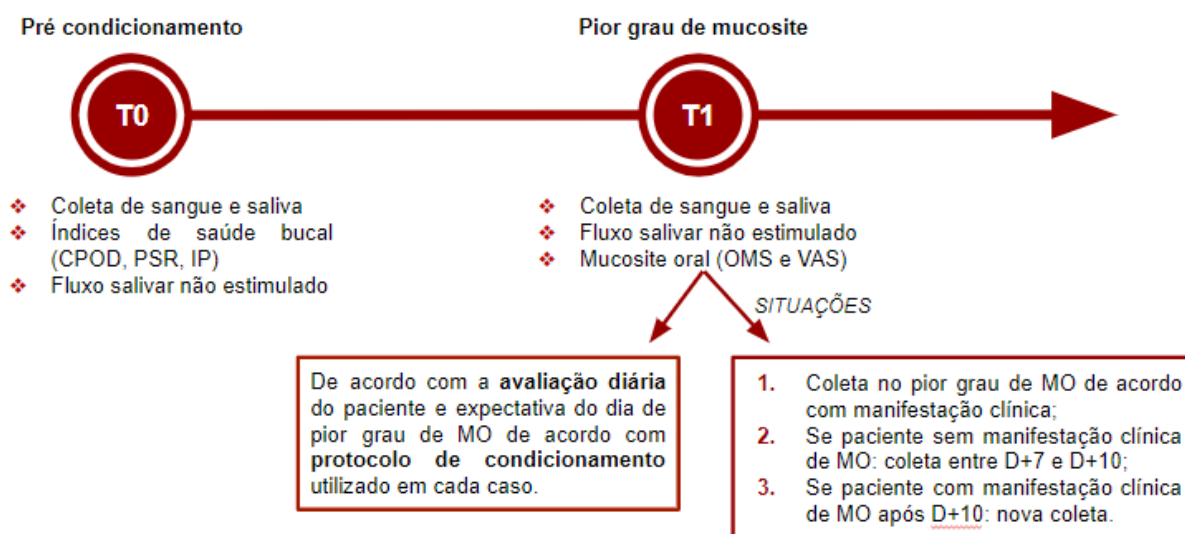
- T1: pior grau de mucosite oral, entre o término do regime de condicionamento e a pega neutrofílica.

Para o momento de pior grau de MO, foi levada em conta a avaliação diária do paciente e a expectativa do dia de pior grau mucosite oral em função do protocolo e condicionamento utilizado. A avaliação clínica sempre sobrepôs a expectativa teórica de dia de pior grau de MO. O pior dia teórico de mucosite oral foi utilizado apenas nos casos em que o paciente não apresentaram MO clinicamente identificável. Em caso de piora da mucosite oral após a coleta, novas coletas foram realizadas, quantas vezes, quantas forem necessárias. Para análise de citocina foram utilizadas as amostras do pior grau clínico de mucosite.

Em relação às variáveis coletadas, no T0 foram coletados e avaliados: índices de saúde bucal - CPOD (dentes cariados, perdidos e obturados) e PSR (índice de saúde periodontal), sangue e saliva para avaliação da expressão de citocinas inflamatórias, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-8, lactoferrina e proteínas totais.

Enquanto no T1 foram coletados grau de mucosite oral (OMS), sangue e saliva para avaliação da expressão de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-8, lactoferrina e proteínas totais).

Figura 1. Fluxo de coleta do estudo



4.2. Variáveis de interesse

A extração dos dados de interesse a partir de prontuário eletrônico foi realizada por um único pesquisador dentista com apoio de um médico responsável para os casos de dúvidas com as informações não odontológicas. A coleta de dados de saúde bucal, mucosite, coleta e processamento de saliva foram realizados por um quatro cirurgiões-dentistas calibrados. A coleta de sangue foi feita pela equipe de enfermagem participante no estudo.

4.2.1. Índices de saúde bucal

4.2.1.1. Condição periodontal: para avaliação da condição periodontal, foi utilizado o Periodontal Screening and Recording (PSR) ou Registro Periodontal Simplificado^{15,16}, que tem por objetivo a estratificação da condição periodontal. Para realização deste exame, utilizou-se uma sonda com extremidade de esfera de 0,5mm de diâmetro e uma faixa colorida entre as medidas de 3,5mm e 5,5mm. A boca foi dividida em sextantes, seis sítios por dentes foram sondados e os escores de 0 a 4 foram registrados de acordo com a pior condição do sextante, como determinado no **Quadro 2**.

Quadro 2. Critérios para definição de escores do PSR

Escore	Critérios PSR
0	Nenhum sinal de doença periodontal - Faixa colorida totalmente visível
1	Sangramento gengival até 30s após a sondagem suave - faixa colorida totalmente visível
2	Cálculo supra e/ou subgengival e/ou margens restauradoras mal adaptadas - faixa colorida totalmente visível
3	Bolsa periodontal que permite a introdução da sonda no sulco (bolsa de 4 a 5 mm) – faixa colorida da sonda parcialmente visível
4	Bolsa periodontal que permite maior introdução da sonda no sulco (bolsa profunda de 6 mm ou mais) - faixa colorida não visível
*	Anormalidade clínica associada aos demais escores - comprometimento de furca, mobilidade, alterações mucogengivais e/ou recessão gengival na área colorida da sonda (maior que 3,5 mm a partir da junção amelocementária).

4.2.1.2. Condição dentária: para a avaliação dentária, foi utilizado o índice CPO-D que consiste em um índice formulado por Klein e Palmer em 1937 e preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) até os dias de hoje. Nesse índice é calculado o número de dentes com cavidade de cárie, restaurados e extraídos, e sua avaliação seguiu a escala de gravidade estabelecida pela OMS¹⁷.

Figura 2. Tabela para preenchimento de CPO-D.

C: _____; P: _____; O: _____ CPOD: _____

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

0- Hígido; C- Cariado; R- Restaurado sem cárie; A- Ausente

Os objetivos de realizar a avaliação da condição dentária a partir do CPOD foi realizar o levantamento epidemiológico para conhecer a prevalência e severidade da doença cárie e conhecer as necessidades de tratamento associadas a ela. Para o cálculo, foi quantificado o número total de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados, e dividido pelo número de indivíduos examinados, podendo apresentar a seguinte escala de severidade: 1. Prevalência muito baixa (0, 1-1, 1); 2. Prevalência baixa (1, 2-2, 6); 3. Prevalência moderada (2, 7-4, 4); 4. Prevalência alta (4, 5-6, 5).

4.2.1.3. Avaliação de mucosite oral: A avaliação de mucosite oral foi realizada de acordo com os parâmetros propostos pela OMS, como determinado no **Quadro 2**.¹⁸

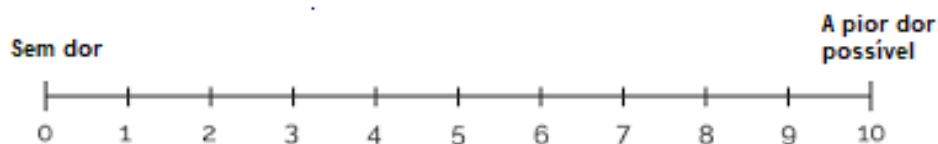
Quadro 2. Parâmetros para classificação da mucosite oral segundo WHO

Classificação	Parâmetro
0	Sem alteração
1	Presença de dor e eritema
2	Presença de úlcera, capaz de comer alimentos sólidos
3	Presença de úlcera, requer dieta líquida

4	Presença de úlcera, alimentação via oral não possível
---	---

4.2.1.4. Avaliação da dor em cavidade oral: A avaliação de dor em mucosa oral foi avaliada pela Escala Analógica Visual (VAS), com escores de 0 (sem dor) a 10 (pior dor possível), o paciente foi instruído a marcar um ponto na linha horizontal correspondente à intensidade de sua dor, como determinado na **Figura 2**. Os resultados foram categorizados de acordo com a intensidade marcada pelo paciente, sendo 0 = sem dor, 1 a 3 = dor leve, 4 a 6 = dor moderada, 7 a 10 = dor intensa¹⁹.

Figura 3. Escala Analógica Visual



4.2.1.5. Coleta, Processamento e definição do Fluxo Salivar:

Os participantes do estudo foram instruídos a não se alimentar, não beber, não fumar, não escovar os dentes por pelo menos 1 hora antes da coleta e realizar bochecho vigoroso com solução fisiológica por 1 minuto imediatamente antes da coleta de forma a minimizar os riscos de contaminação e distorção dos resultados. As amostras de saliva foram colhidas entre as 7:00 e 9:00 horas da manhã com o paciente sentado, ereto e com a cabeça levemente inclinada para frente e a avaliação do fluxo salivar foi determinado pela expectoração da saliva em tubo graduado de 15mL por um período de 15 minutos, e o volume obtido foi pesado em Balança Digital Sf-400 Alta Precisão Eletrônica 1g a 10kg para determinação do fluxo salivar e calculado por minuto²⁰.

O frasco foi armazenado em gelo até o processamento laboratorial que consistiu em: centrifugação a 13.000 rpm por 10 minutos em uma temperatura de 4°C, o sobrenadante foi descartado e a saliva estocada em eppendorfs identificados de 1mL e imediatamente estocada em freezer a -80°C.

4.2.1.6. Coleta e processamento de sangue

Amostras de 5mL de sangue foram coletadas pela equipe de enfermagem através do catéter venoso, imediatamente após coleta de saliva, de acordo com o seguinte protocolo: lavagem das mãos, antissepsia, calçar luvas, coleta com auxílio de um frasco de coleta (tampa roxa), contendo um anticoagulante (EDTA), remover antisséptico residual, remover luvas, lavar as mãos e identificar o frasco.

O frasco foi armazenado em gelo até o processamento laboratorial que consistiu em: centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos a 4°C, o plasma foi coletado e estocado em eppendorfs identificados de 1mL, e armazenado em freezer a -80°C para posterior análise de citocinas.

O tempo decorrido entre a coleta de sangue e saliva e o congelamento das amostras não excedeu 3 horas em nenhum caso.

4.2.1.7. Análise das Citocinas nas amostras de saliva e sangue

A análise das citocinas foi realizada através da técnica ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), seguindo as orientações do fabricante PreproTech (California, EUA) e foram mensurados os níveis dos mediadores inflamatórios: TNF- α , IL-1 β , IL-8, IL-6. Enquanto a mensuração da lactoferrina foi feita pelo kit de ELISA desenvolvido pela Sigma-Aldrich (St Louis, EUA) e para a quantificação das proteínas totais foi utilizado o ensaio colorimétrico Bio-Rad DC Protein Assay (Bio-Rad, California, EUA).

Para o preparo da placa de ELISA, foram realizadas diluições dos anticorpos de captura policlonal, para IL-1 β (antigen-affinity purified goat anti IL-1 β), IL-6 (antigen-affinity purified goat anti-hIL-6), IL-8 (antigen-affinity purified rabbit anti-hIL-8) e TNF- α (antigen-affinity purified rabbit anti-hTNF- α) com PBS (Phosphate-buffered saline) na concentração de 0,50 μ g/ml (para IL-1 β , IL-8 e IL-6) e 1,0 μ g/ml (para TNF- α). Então, foram adicionados 100 μ l/poço e a placa foi mantida sem manipulação em temperatura ambiente overnight (ou seja, até o dia seguinte). Então, a placa foi lavada quatro vezes com 300 μ l de 0,05% Tween-20 em PBS, e realizado o bloqueio com 300 μ l por poço de albumina de soro bovino a 1% (BSA) diluída em PBS. Então, a placa foi incubada por 60 minutos em temperatura ambiente e lavada quatro vezes com 300 μ l de 0,05% Tween-20 em PBS. Para

determinarmos o padrão de cada citocina, foram realizadas diluições seriadas de cada proteína em diluente (0,05% de Tween-20, 0,1% de BSA em PBS) partindo de 1000pg/ml para as citocinas IL-1 β , IL-8, 1500pg/ml para IL-6 e 3000pg/ml para TNF- α , conforme a recomendação do fabricante. Foi colocado cem microlitros por poço da proteína padrão em duplicata, iniciando da concentração indicada pelo fabricante seguido de diluições $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$, $\frac{1}{32}$, $\frac{1}{64}$ e $\frac{1}{128}$. Sendo que no último poço foi colocado somente diluente. Seguiu-se a colocação de 100 microlitros das amostras a serem analisadas e incubação da placa por duas horas e quatro novas lavagens foram realizadas. Após essa etapa, o anticorpo de detecção para IL-1 β (biotinylated Goat anti-human IL-1 β), IL-8 (biotinylated antigen-affinity purified rabbit anti-hIL-8), TNF- α (biotinylated antigen-affinity purified rabbit anti-hTNF- α) foram diluídos a 0,50 μ g/ml e IL-6 (biotinylated antigen-affinity purified goat anti-hIL-6) a 1,0 μ g/ml. Foi adicionado 100 μ l/poço do anticorpo de detecção seguido de incubação por duas horas. E novamente foi realizado o ciclo de lavagens e início da fase de revelação adicionando o conjugado de estreptavidina-peroxidase, com incubação por 30 minutos, novo ciclo de lavagem e adição de ABTS para leitura. O desenvolvimento da cor foi monitorado e conduzida a leitura da absorbância em leitor de ELISA (Thermo Scientific, Multiskan GO), segundo as determinações do fabricante.

Já em relação à lactoferrina, o kit de ELISA utilizado foi o desenvolvido pela Sigma-Aldrich (St Louis, EUA). A curva padrão foi realizada usando diluições seriadas partindo de 5 μ g/ml da proteína obtida do leite humano e adicionados 100 μ L por poço como duplicata. Foi realizado um piloto com diferentes diluições e decidido por diluir as amostras a dez vezes em PBS e colocado 100 μ L por poço, então, as placas foram incubadas overnight em uma temperatura de 4°C. Logo após, foi realizado o bloqueio de ligações não específicas com 200 μ L de ovalbumina a 10% por poço e incubação em banho-maria durante duas horas em uma temperatura de 37°C. Foi realizado um ciclo de 4 lavagens com 200 μ L de PBS por poço e a adicionado 100 μ L do anticorpo primário policlonal de coelho anti-Lf humana L3262 (Sigma-Aldrich, St Louis, USA) diluído a 1 μ L/ml em ovalbumina 1%. Então, a placa foi incubada durante 2 horas em temperatura ambiente. Repetiu-se novo ciclo de lavagens e adição de 100 μ L do anticorpo secundário proveniente de ovelha anti-IgG de coelho conjugada a peroxidase (MP Biomedicals, Illkirch, França) diluído a 0,5 μ L/ml em ovalbumina 1%, seguido de incubação por 1 hora em temperatura ambiente. Após novas lavagens com PBS realizou-se a revelação com o-Phenylenediamine dihydrochloride (Sigma-Aldrich, St Louis, USA) segundo as recomendações do fabricante. A leitura da

absorbância foi realizada em leitor de ELISA (Thermo Scientific, Multiskan GO), segundo as determinações do fabricante.

Por fim, a avaliação da concentração de proteínas totais foi realizada por ensaio colorimétrico Bio-Rad DC Protein Assay (Bio-Rad, California, EUA). Primeiramente, foi adicionado 5 μ L das amostras a serem analisadas juntamente da proteína padrão (Bovine serum albumin standard) em duplicata usando diluições seriadas partindo de 1,5mg/ml. Então, realizada a colocação de 25 μ L de uma solução alcalina de tartarato de cobre (Bio-Rad DC Protein Assay Reagent A) e adição de 200 μ L do reagente de Folin diluído (Bio-Rad DC Protein Assay Reagent B). A placa foi homogeneizada durante 5 minutos e a leitura da absorbância foi realizada a 750 nm em leitor de ELISA (Thermo Scientific, Multiskan GO).

4.3. Forma de análise dos resultados

Os dados categóricos foram apresentados como frequência e porcentagem, enquanto os dados contínuos como média e desvio padrão, quando aplicados testes paramétricos; e mediana e intervalo interquartil (IIQ; P25 – P75), quando aplicados testes não paramétricos. Os dados demográficos foram analisados por Teste T de Student e Teste Qui-quadrado. As expressões das citocinas foram testadas utilizando o teste Mann-Whitney para dois grupos de amostras independentes e o teste Kruskal-Wallis para mais de dois grupos independentes. As comparações entre os tempos T0 e T1 foram obtidas pelo teste postos sinalizados de Wilcoxon.

O teste de correlação de Spearman foi aplicado para avaliar a relação monotônica entre as variáveis numéricas. Para efeito de interpretação da relação adotou-se: negligível (≤ 0.19), fraca (0.2 – 0.29), moderada (0.30 – 0.39), forte (0.40 – 0.69) e muito forte (≥ 0.70). Com o objetivo de avaliar um modelo preditivo para mucosite a partir dos fatores PSR, Índice de placa e CPOD, foram aplicadas a regressão linear múltipla e regressão logística. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados com o Software JMP SAS v. 16 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)). Adotou-se um nível de significância de 0,05.

5. RESULTADOS

5.1. Dados demográficos

Foram incluídos 40 pacientes, com idade média de 36.7 anos (\pm 16.4), variando de 15 a 64 anos, com predomínio de pacientes do sexo masculino (62.5%). Em relação às doenças de base, houve discreto predomínio das doenças malignas (52.5%). 47.5% dos transplantes foram aparentados idênticos e 15% não aparentados idênticos, metade dos pacientes receberam células obtidas por punção medular e a outra metade de fonte periférica. O esquema de profilaxia para DECH foi homogêneo com esquema de metrotexato (MTX) com ciclosporina (CSA); de Micofenolato (MMF), ciclosporina e ciclofosfamida pós transplante (PTCy). Outros regimes incluíram MTX + Ácido folínico ou apenas Sirulimus. Os dados demográficos estão descritos na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Dados demográficos da amostra

Dados demográficos	N (40)	%	Média (DP)
Idade	-----	-----	36.7 (16.4)
Sexo (masculino/feminino)	25/15	62.5/37.5	
Sexo do doador/receptor			
Sexo compatível	20	50	
masculino/feminino	10	25	
feminino / masculino	10	25	
Doença de base			
Leucemia aguda	16	40	
Anemia Aplástica	10	25	
Anemia Falciforme	4	10	

Linfoma de Hodgkin	2	5
Outro	8	20
Condicionamento		
Não mieloablativo	5	12.5
Intensidade reduzida	10	25
Mieloblatoivo	25	62.5
Fonte de células		
Sangue periférico	20	50
Medula óssea	20	50
Doador		
Aparentado idêntico	19	47.5
Aparentado não compatível	14	35
Não aparentado idêntico	6	15
Não aparentado não compatível	1	2.5
Profilaxia DECH		
MTX + CSA	16	40
MMF + CSA + CyPT	10	25
Other	14	35

CSA: Ciclosporina; MTX:Metrotexato; MMF: Micofenolato de Mofetila; CyPT: Ciclofosfâmina pós transplante

Cinquenta e sete por cento dos pacientes apresentaram higiene oral insatisfatória no pré transplante (T0). Porém, apenas 2 pacientes apresentaram doença periodontal, ou seja, pelo menos um sextante com pontuação 3 ou 4 no Exame Periodontal Simplificado (PSR). Em relação ao CPOD, os pacientes apresentaram uma média de 12.82 (\pm 9.34), sendo dos 40 pacientes avaliados, 6 deles eram desdentados totais (CPOD = 28) e 2 desses pacientes nunca tiveram tido nenhuma história prévia com a doença cárie (CPOD = 0). Os dados de saúde bucal estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados de saúde bucal da amostra

Dados de saúde bucal	N	%	Média (DP)
Registro periodontal simplificado (PSR)			1.35 (\pm 0.92)
Índice de placa (IP)			0.6 (\pm 0,54)
Índice de dentes cariados perdidos e obturados (CPO-D)			12.82 (\pm 9.34)
Pacientes com doença periodontal (pelo menos um sextante com pontuação 3 ou 4)	2	5	
Pacientes com higiene oral insatisfatória	23	57.5	

*Para o PSR foram excluídos os pacientes menores que 15 anos e pacientes edêntulos

*Para o Índice de placa foram excluídos os pacientes edêntulos

Metade dos pacientes (52,5%) não apresentou mucosite oral (mucosite grau 0), 20% desenvolveu mucosite grau 1, 7.5% grau 2, 15% grau 3 e 5% grau 4, segundo a classificação da OMS (**Tabela 3**). O pior grau de mucosite foi experimentado entre os dias D+5 a D+10 (gráfico 1).

A pontuação média para intensidade de dor em boca (VAS), no momento de pior grau de mucosite oral foi de 2.7 (\pm 3.93), em uma escala de 0 a 10. Sendo que 4 pacientes apresentaram pontuação máxima de dor. A curva de evolução de dor foi semelhante à de

gravidade de mucosite (gráfico 2). Foi encontrada correlação positiva entre da idade menor e doença de base maligna com os maiores níveis de dor (**Figuras 1 e 2, Tabela 4**).

Tabela 3. Classificação da Mucosite Oral (OMS) da amostra

Classificação Mucosite (OMS)	N	%
Grau 0	21	52.5
Grau 1	8	20
Grau 2	3	7.5
Grau 3	3	15
Grau 4	2	5

Gráfico 1. Ocorrência de Mucosite oral x Tempo

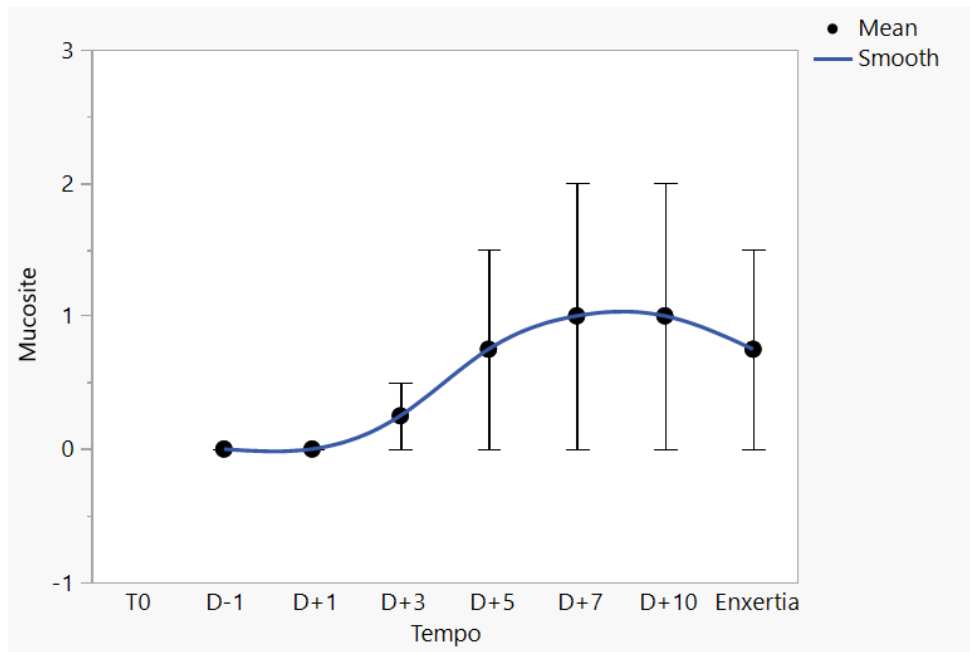


Gráfico 2. Ocorrência de Dor (VAS) x Tempo

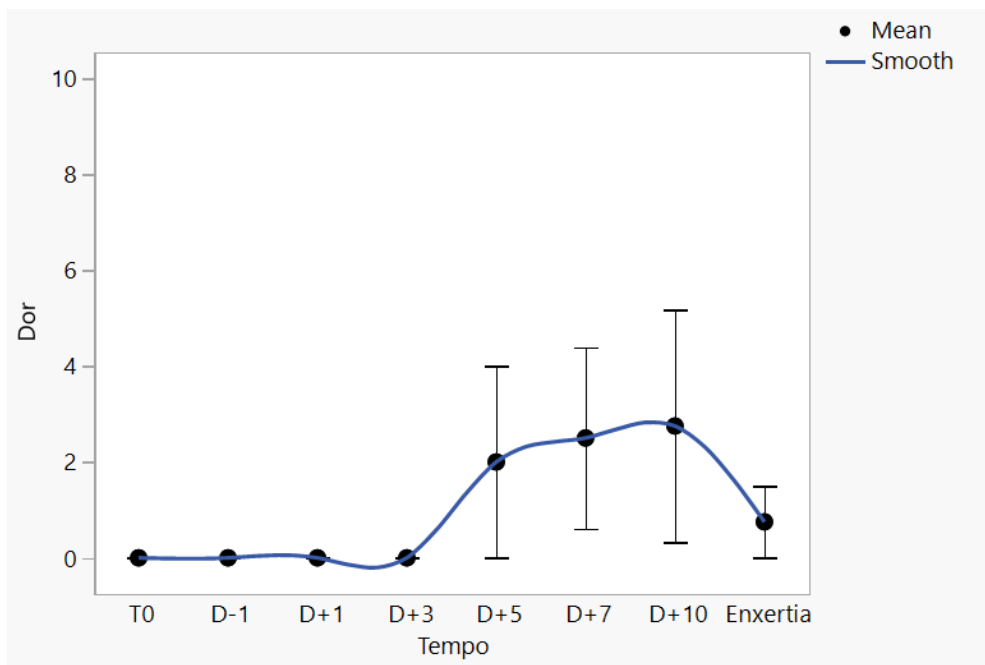
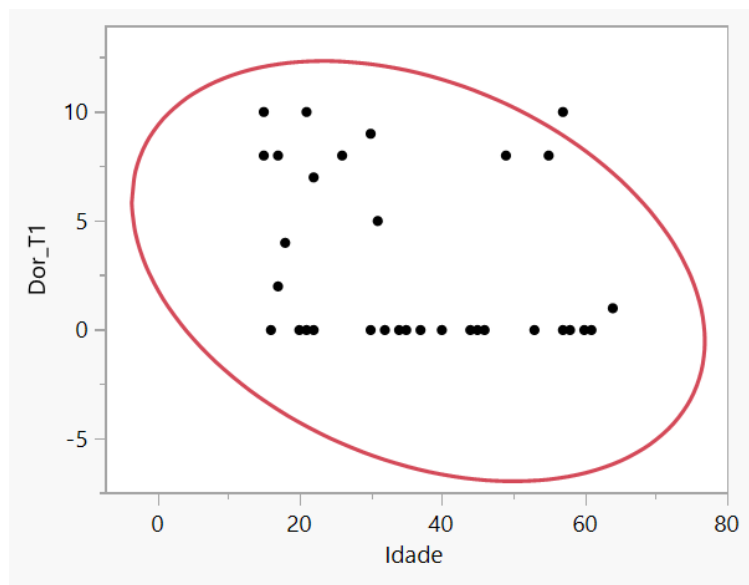
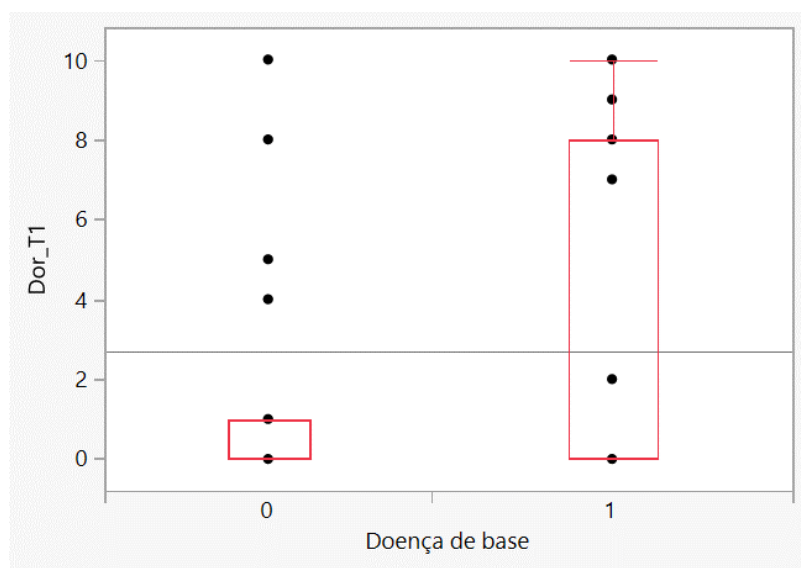


Figura 4. Correlação Dor x Idade



*Teste de correlação de Spearman ($\rho = -0.38$; $p = 0,0169$)

Figura 5. Correlação Dor x Doença de base



Teste Mann-Whitney ($p=0,10$)

Tabela 4. Correlação Dor x Doença de base

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum	P-valor (*)
0	0	0	0	0	1	8	10	0,10
1	0	0	0	0	8	10	10	

(*) Teste Mann-Whitney

5.2. Comparação e correlação da expressão de citocinas entre saliva e plasma; e entre T0 e T1 .

As amostras de plasma mostraram expressão significativamente maior de TNF- α ($p=0.03$) em T0, quando comparada com T1. Enquanto, para lactoferrina ($p<0.001$) aconteceu o inverso, sua expressão diminuiu significativamente quando comparado T0 com T1. Dentre as amostras de saliva, a quantificação de TNF ($p=0.004$) e IL-6 ($p<0.001$) foi significativamente maior em T1 quando comparado com T0. Não houve diferença das demais citocinas na comparação T0xT1 tanto para sangue, quanto para saliva, incluindo toda a população (Tabela 5).

Tabela 5. Comparação T0 vs T1 da concentração das citocinas no **sangue** e na **saliva**.

Citocinas	T0			T1			P-valor (*)
	Mediana	P25	P75	Mediana	P25	P75	
SANGUE							
IL8	60.5	37.1	95.5	67.4	43.8	99.2	0.09
IL1b	462.2	277.8	986.1	436.2	241.2	716.4	0.08
TNF	507.5	359.1	733.0	389.8	256.9	628.2	0.0367
IL6	121.5	63.1	241.1	105.8	72.4	223.6	0.52
LF	19.5	4.6	37.8	8.8	0.0	23.4	<0.0001
Proteínas totais	8785.0	8306.0	9044.0	8672.5	7989.6	8805.2	0.07
SALIVA							
IL8	667.0	493.0	1033.2	754.7	442.2	930.0	0.73
IL1b	223.1	111.0	528.3	295.3	147.3	511.0	0.48
TNF	0.0	0.0	243.4	502.3	0.0	1059.8	0.0049
IL6	29.5	0.0	77.9	178.4	57.1	650.9	<0.0001
LF	180.5	86.4	237.3	165.0	99.6	239.2	0.96
Proteínas totais	1494.9	1032.5	2166.8	1577.8	1103.8	2243.1	0.84

(*) teste de postos sinalizados de Wilcoxon

Quando comparadas as citocinas em sangue e saliva nos mesmos tempos, a expressão das citocinas IL-8 ($p < 0.001$) e lactoferrina ($p < 0.001$) foi significativamente maior em saliva de T0 quando comparada com sangue no mesmo tempo. Enquanto a expressão de IL-1 β ($p = 0.0006$), TNF- α ($p = 0.001$), IL-6 ($p < 0.001$) e proteínas totais ($p < 0.001$) foi significativamente maior em sangue de T0 quando comparada com saliva no mesmo tempo.

Em T1, a expressão de citocinas IL-8 ($p < 0.001$), IL-6 ($p = 0.01$) e lactoferrina ($p < 0.001$) foi significativamente maior em saliva quando comparada com sangue; enquanto a expressão de IL-1 β ($p = 0.004$) e proteínas totais ($p < 0.001$) foi significativamente maior em sangue de T1 quando comparado com saliva. A expressão de TNF- α se manteve maior em

saliva quando comparada com sangue em T1, apesar de não apresentar significância estatística ($p=0.22$).

Tabela 6. Comparação sangue X saliva da concentração das citocinas nos tempos T0 e T1 sangue e na saliva.

Citocinas	Saliva			Sangue			P-valor (*)
	Mediana	P25	P75	Mediana	P25	P75	
T0							
IL8	667.0	493.0	1033.2	60.5	37.1	95.5	<.0001
IL1b	223.1	111.0	528.3	462.2	277.8	986.1	0.0006
TNF	0.0	0.0	243.4	507.5	359.1	733.0	0.0001
IL6	29.5	0.0	77.9	121.5	63.1	241.1	<.0001
LF	180.5	86.4	237.3	19.5	4.6	37.8	<.0001
Proteínas Totais	1494.9	1032.5	2166.8	8785.0	8306.0	9044.0	<.0001
T1							
IL8	754.7	442.2	930.0	67.4	43.8	99.2	<.0001
IL1b	295.3	147.3	511.0	436.2	241.2	716.4	0.0046
TNF	502.3	0.0	1059.8	389.8	256.9	628.2	0.22
IL6	178.4	57.1	650.9	105.8	72.4	223.6	0.0101
LF	165.0	99.6	239.2	8.8	0.0	23.4	<.0001
Proteínas Totais	1577.8	1103.8	2243.1	8672.5	7989.6	8805.2	<.0001

(*) teste de postos sinalizados de Wilcoxon

Negritos indicam valores superiores

Em T0 a expressão de citocinas IL-8 ($\rho=0.340$, $p=0.031$), IL-1 β ($\rho=0.575$, $p=0.0001$), IL-6 ($\rho=0.416$, $p=0.007$) e lactoferrina ($\rho=0.318$, $p=0.045$), apresentaram correlação positiva e significativa. Em T1, as interleucinas IL-8, IL-1 β e IL-6 deixam de ter correlação significativa entre sangue e saliva; enquanto TNF- α ($\rho=0.447$, $p=0.003$) e lactoferrina ($\rho=0.488$, $p=0.001$) apresentaram forte correlação (**Tabela 7**).

Tabela 7. Correlação entre a expressão de citocina em sangue e saliva.

Citocinas	T0		T1	
	ρ	P-valor (*)	ρ	P-valor (*)
IL8	0.3402	0.0317	0.0501	0.7589
IL1b	0.5751	0.0001	0.0130	0.9363
TNF	0.0102	0.9503	0.4472	0.0038
IL6	0.4163	0.0075	0.2173	0.1781
LF	0.3187	0.0451	0.4886	0.0014
Proteínas Totais	0.3081	0.0531	0.1726	0.2868

(*) Teste de correlação de Spearman

5.3. Correlação da expressão de citocinas com o grau de Mucosite oral e escala de dor (VAS)

O teste de Spearman, apresentou forte correlação da expressão de TNF- α ($\rho=0.403$; $p=0,009$) em T0; e correlação moderada de TNF- α ($\rho=0.33$, $p=0.037$) e IL-6 ($\rho=0.36$, $p=0.02$) em T1 em sangue com a gravidade de mucosite. Enquanto em saliva, não houve correlação da expressão de citocinas em T0 com a gravidade de mucosite oral, apesar de TNF- α ter apresentado tendência de correlação. Já em T1, houve correlação moderada de IL-8 ($\rho=0.33$, $p=0.03$); forte de TNF- α ($\rho=0.52$, $p=0.0005$) e IL-6 ($\rho=0.62$, $p<0.0001$); além de uma correlação negligível da lactoferrina ($\rho=-0.38$, $p=0.01$) com a gravidade de mucosite, ou seja, a lactoferrina pode ter um efeito protetivo na gravidade de MO (tabela 8).

Tabela 8. Correlação da concentração das citocinas no **sangue** e **saliva** em T0 e T1 X Mucosite oral (OMS).

Citocinas	Spearman (ρ)	P-valor	Citocinas	Spearman (ρ)	P-valor
SANGUE			SALIVA		
T0			T0		
IL8	0.2079	0.1979	IL8	-0.1168	0.4728
IL1b	-0.1416	0.3833	IL1b	-0.0493	0.7625
TNF	0.4034	0.0099	TNF	0.3077	0.0535
IL6	0.2517	0.1171	IL6	0.2576	0.1086
LF	-0.1499	0.3558	LF	-0.2337	0.1467
Proteínas Totais	-0.2892	0.0703	Proteínas Totais	-0.1183	0.4674
T1			T1		
IL8	0.3357	0.0342	IL8	0.3381	0.0329
IL1b	-0.1835	0.2570	IL1b	0.2497	0.1201
TNF	0.3307	0.0372	TNF	0.5224	0.0005
IL6	0.3657	0.0203	IL6	0.6205	<.0001
LF	-0.1722	0.2880	LF	-0.3883	0.0133
Proteínas Totais	0.0340	0.8350	Proteínas Totais	0.1805	0.2649

Houve forte correlação de TNF- α ($\rho=0.501$; $p=0,001$) e moderada correlação de IL-6 ($\rho=0.391$; $p=0,012$) do sangue em T0 com a dor apresentada durante a mucosite oral. Enquanto em T1, houve forte correlação de IL-6 ($\rho=0.409$; $p=0,008$). Já em saliva, não houve correlação das citocinas em T0 com a dor na mucosite, porém houve correlação forte de IL-8 ($\rho=0.456$; $p=0,003$), TNF- α ($\rho=0.401$; $p=0,010$) e IL-6 ($\rho=0.523$; $p=0,0005$) em T1, demonstrando um papel importante das citocinas no evento local da dor e mucosite oral. Em contrapartida, a lactoferrina ($\rho=-0.317$; $p=0,045$) apresentou correlação negligível em saliva no T1, repetindo a correlação encontrada com a gravidade de mucosite oral (tabela 9).

Tabela 9. Correlação da concentração das citocinas no **sangue** e **saliva** em T0 e T1 X Dor (VAS) T1.

SANGUE			SALIVA		
Citocinas	Spearman (ρ)	P-valor	Citocinas	Spearman (ρ)	P-valor
T0			T0		
IL8	0.1214	0.4556	IL8	-0.2230	0.1667
IL1b	0.0246	0.8800	IL1b	-0.0086	0.9578
TNF	0.5017	0.0010	TNF	0.2431	0.1306
IL6	0.3913	0.0125	IL6	0.1449	0.3724
LF	-0.0467	0.7750	LF	-0.1186	0.4660
Proteínas Totais	-0.1909	0.2381	Proteínas Totais	-0.2310	0.1516
T1			T1		
IL8	0.2262	0.1604	IL8	0.4561	0.0031
IL1b	0.0418	0.7977	IL1b	0.2088	0.1960
TNF	0.2340	0.1461	TNF	0.4010	0.0103
IL6	0.4096	0.0087	IL6	0.5234	0.0005
LF	-0.0678	0.6775	LF	-0.3176	0.0458
Proteínas Totais	-0.1360	0.4028	Proteínas Totais	0.1953	0.2271

5.4. Correlação da expressão de citocinas com índices de saúde bucal

Foi encontrada correlação negativa da expressão de IL-1β ($\rho=-0.372$; $p=0,027$) em sangue com PSR. Para as demais citocinas estudadas tanto em sangue quanto em saliva, não foi encontrada correlação significativa (**Tabela 10**).

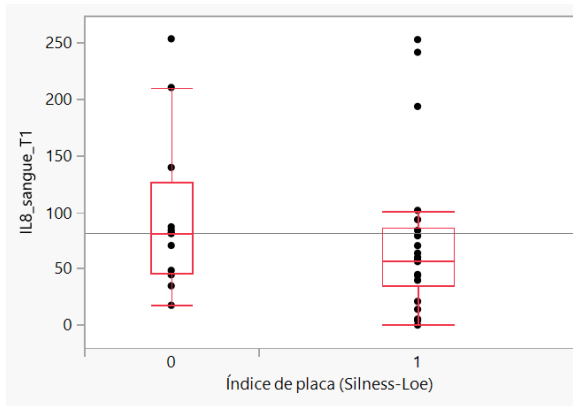
Tabela 10. Correlação citocinas no sangue e saliva com o **PSR**

Citocinas (T1)	Sangue		Saliva	
	ρ	P-valor (*)	ρ	P-valor (*)
IL8	-0,1078	0,5376	-0,0251	0,8863
IL1b	-0,3729	0,0274	-0,1414	0,4179
TNF	0,0373	0,8316	0,0141	0,9361
IL6	-0,0307	0,8610	0,0721	0,6807
LF	-0,1588	0,3622	-0,1106	0,5269
Proteínas Totais	0,1264	0,4692	0,2038	0,2402

(*) Teste de correlação de Spearman

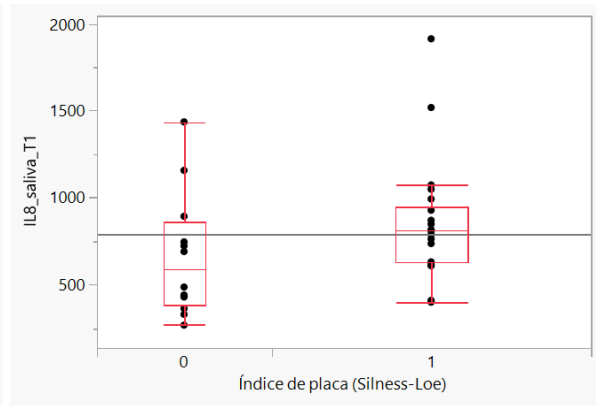
A análise de correlação da expressão de citocinas com o índice de placa não apresetou significância. Apesar disso, foi observada tendencia de correlação entre índice de placa 1 com aumento da expressão de IL-8 em saliva (p:0,06). Vale ressaltar que em função do baixo número de pacientes com índice de placa 2, esse grupo não foi submetido a análise estatística (**Figuras 6 a 15, Tabela 11**).

Figura 6. IL-8 Sangue x Índice de placa



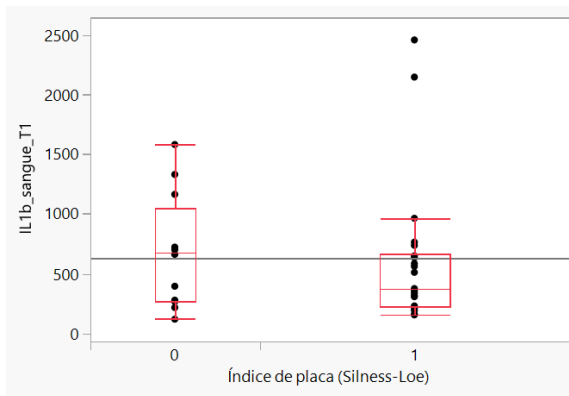
*Teste Mann-Whitney (p=0.2)

Figura 7. IL-8 Saliva x Índice de placa



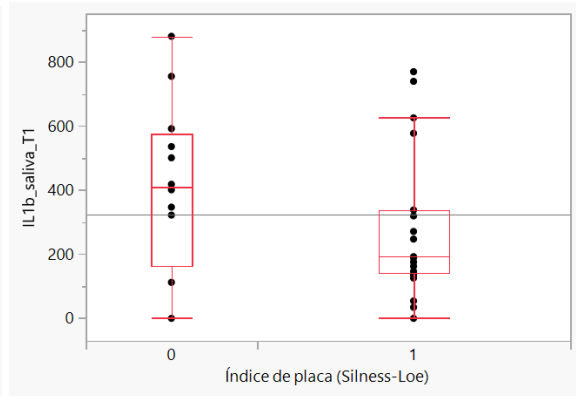
*Teste Mann-Whitney(p=0.06)

Figura 8. IL-1b Sangue x Índice de placa



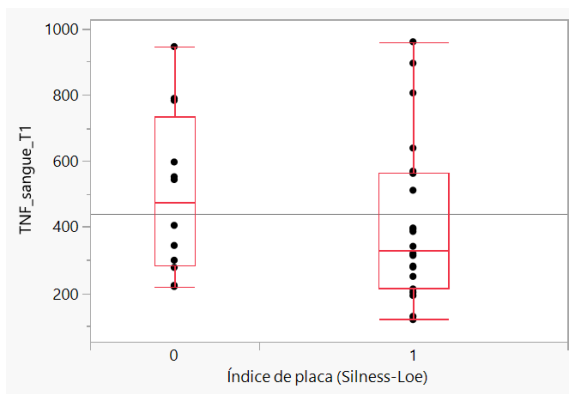
*Teste Mann-Whitney (p=0.37)

Figura 9. IL-1b Saliva x Índice de placa



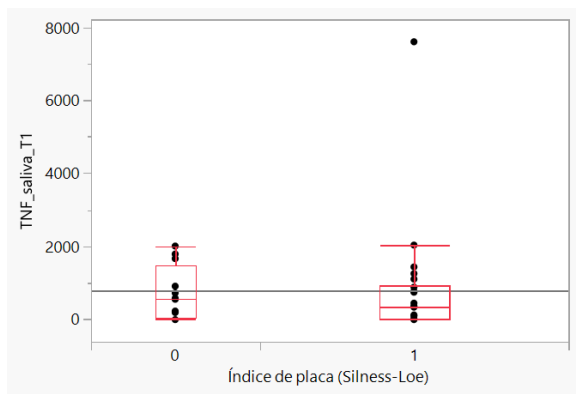
*Teste Mann-Whitney (p=0.15)

Figura 10. TNF Sangue x Índice de placa



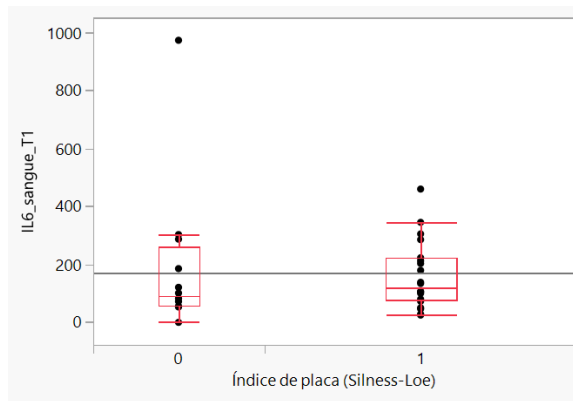
*Teste Mann-Whitney (p=0.26)

Figura 11. TNF Saliva x Índice de placa



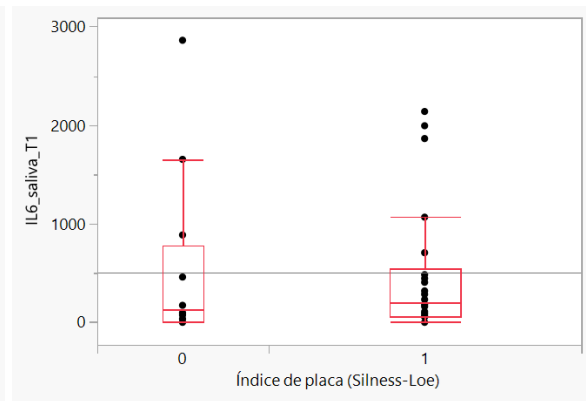
*Teste Mann-Whitney (p=0.65)

Figura 12. IL-6 Sangue x Índice de placa



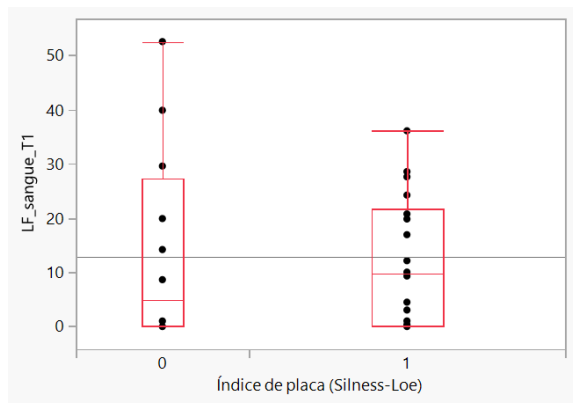
*Teste Mann-Whitney ($p=0,58$)

Figura 13. IL-6 Saliva x Índice de placa



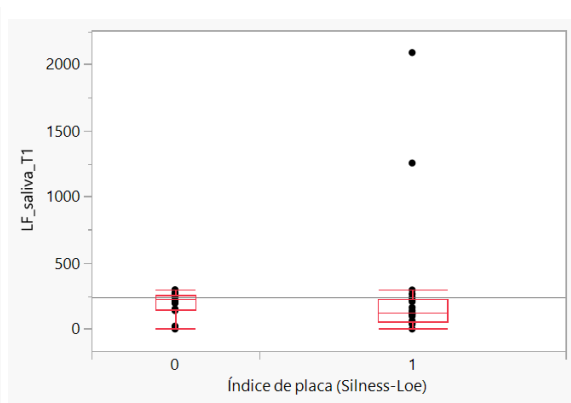
*Teste Mann-Whitney ($p=0,59$)

Figura 14. LF Sangue x Índice de placa



*Teste Mann-Whitney ($p=0,78$)

Figura 15. LF Saliva x Índice de placa



*Teste Mann-Whitney ($p=0,18$)

Tabela 11. Correlação citocinas no sangue e saliva com o **Índice de placa (Silness-Loe)**

	Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum	P-valor (*)
IL-8 Sangue	0	17,49	22,641	45,36	81,045	126,005	239,655	252,54	0.2
	1	0	4,571	34,9125	56,8	85,99	226,319	251,83	
IL-8 Saliva	0	267,58	286,186	379,6675	588,36	856,165	1352,056	1435,69	0.06
	1	399,55	469,509	632,605	809,4	946,0775	1384,611	1913,09	
IL-1b Sangue	0	115,37	144,791	266,59	680,28	1053,595	1507,585	1582,96	0.37
	1	151,61	168,261	222,8425	374,01	669,815	1793,937	2462,03	
IL-1b Saliva	0	0	0	164,8225	409,72	577,78	842,465	879,92	0.15
	1	0	40,515	143,8125	193,32	338,565	705,132	769,5	
TNF Sangue	0	219,6	220,617	282,7375	474,03	736,5	898,931	946,01	0.26
	1	119,28	148,13	212,645	330,35	563,685	868,811	960,58	
TNF saliva	0	0	0	48,6925	568,59	1479,383	1944,818	2010,05	0.65
	1	0	0	0	354,705	942,385	1858,154	7595,18	
IL-6 Sangue	0	0	15,879	60,135	91,99	261,455	771,573	972,51	0,58
	1	24,99	33,893	78,385	120,52	223,105	332,897	459,56	
IL-6 Saliva	0	0	0	8,75	135,135	779,69	2498,079	2860,32	0,59
	1	0	0	62,3725	206,64	539,4375	1954,724	2138,26	
LF Sangue	0	0	0	0	4,825	27,1425	48,688	52,48	0,78
	1	0	0	0	9,665	21,6975	33,797	36,08	
LF Saliva	0	0	6,567	142,4	225,58	261,0875	290,008	297,43	0,18
	1	0	11,043	59,285	121,07	225,46	967,161	2090,36	

*Teste Mann-Whitney

Além disso, o CPOD também não apresentou correlação com a expressão das citocinas (tabela 12).

Tabela 12. Correlação citocinas no sangue e saliva com o CPO-D:

Citocinas (T1)	Sangue		Saliva	
	ρ	P-valor (*)	ρ	P-valor (*)
IL8	0,1120	0,4914	-0,1706	0,2924
IL1b	0,0430	0,7921	0,0280	0,8640
TNF	-0,1707	0,2922	-0,0999	0,5398
IL6	-0,1072	0,5103	-0,0837	0,6077
LF	-0,1442	0,3747	0,0288	0,8599
Proteínas Totais	-0,1854	0,2520	0,0988	0,5440

(*) Teste de correlação de Spearman

5.5. Correlação entre as variáveis estudadas e a expressão de citocinas

Não foi encontrada correlação significativa entre idade, sexo, tipo de doador, compatibilidade ABO, compatibilidade HLA, gênero doador/receptor e tipo de condicionamento com a expressão de citocina em sangue e saliva. Os pacientes que receberam fonte de células de sangue periférico, apresentaram maior expressão de IL-8 ($p=0.02$) em sangue. Enquanto os portadores de doença maligna apresentaram maior expressão de TNF ($p<0.0001$) em sangue e menor expressão de lactoferrina ($p=0.004$) em sangue (Tabela 14 a 21 e Figuras 16 a 95)

Tabela 13. Correlação citocinas no sangue e saliva com a Idade

Citocinas	Sangue		Saliva	
	ρ	P-valor (*)	ρ	P-valor (*)
IL8	0,1225	0,4515	-0,2885	0,0711
IL1b	-0,0960	0,5557	-0,1065	0,5130
TNF	-0,0689	0,6725	-0,1703	0,2935
IL6	-0,1818	0,2614	-0,1699	0,2946
LF	-0,0679	0,6773	0,2602	0,1049
Proteínas Totais	-0,0596	0,7151	0,1169	0,4724

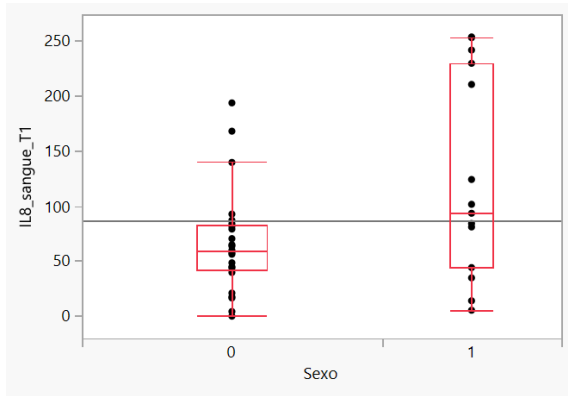
(*) Teste de correlação de Spearman

Tabela 14. Correlação citocinas no sangue e saliva com o **Sexo**

	Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum	P-valor (*)
IL-8 Sangue	0	0	11,576	41,685	59,74	82,525	150,37	192,88	0,07
	1	5,39	10,52	43,96	93,07	228,66	252,114	252,54	
IL-8 Saliva	0	267,58	307,992	466,41	763,55	910,545	1139,568	1518,15	0,69
	1	363,09	384,966	434,47	736,54	1073,02	1626,65	1913,09	
IL-1b Sangue	0	151,61	171,636	211,845	375,09	710,54	1558,608	2462,03	0,38
	1	115,37	211,484	313,45	559,57	736,04	1432,21	1582,96	
IL-1b Saliva	0	0	0	136,09	192,47	518,43	760,842	1062,93	0,44
	1	0	67,44	162,66	338,15	514,33	795,56	879,92	
TNF Sangue	0	129,17	198,304	252,185	396,77	787,105	951,838	2735,48	0,31
	1	119,28	134,982	250,13	343,82	568,86	700,886	789,08	
TNF saliva	0	0	0	0	232,68	850,25	1890,458	3684,95	0,19
	1	0	0	194,77	577,74	1258,54	4244,102	7595,18	
IL-6 Sangue	0	24,99	44,652	72,53	138,26	223,35	367,12	459,56	0,66
	1	0	17,13	72,17	101,08	285,23	634,71	972,51	
IL-6 Saliva	0	0	0	0	175,23	471,63	1505,91	1993,73	0,22
	1	0	37,446	97,11	181,63	886,41	2427,084	2860,32	
LF Sangue	0	0	0	0	9,01	22,05	33,612	52,48	0,81
	1	0	0	0	1,02	29,56	36,062	36,08	
LF Saliva	0	0	0	73,535	163,16	237,055	281,726	2090,36	0,78
	1	21,89	37,058	105,5	166,74	239,85	680,502	1255,11	

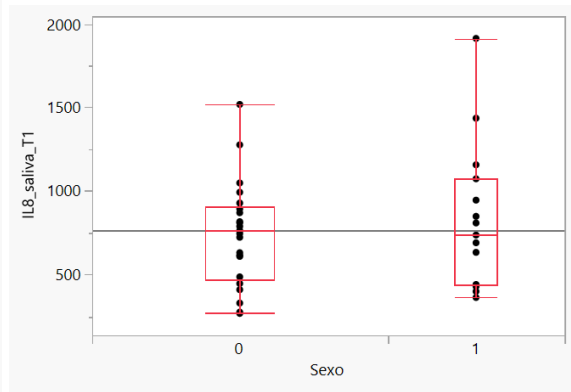
*Teste Mann-Whitney

Figura 16. IL-8 Sangue x Sexo



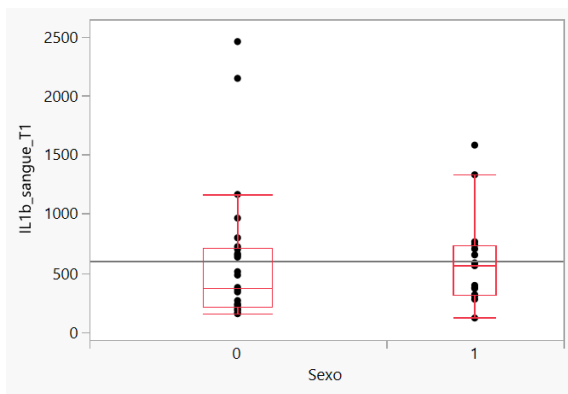
*Teste Mann-Whitney ($p = 0,07$)

Figura 17. IL-8 Saliva x Sexo



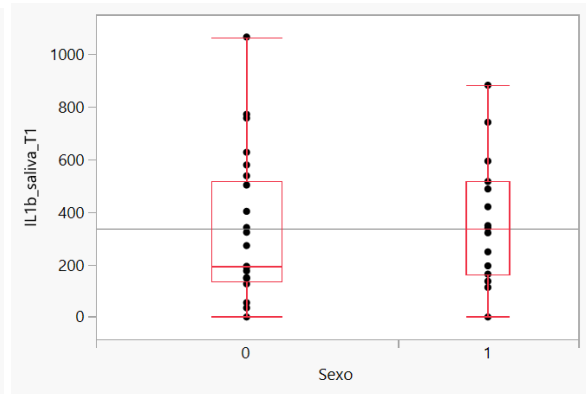
*Teste Mann-Whitney ($p = 0,69$)

Figura 18. IL-1b Sangue x Sexo



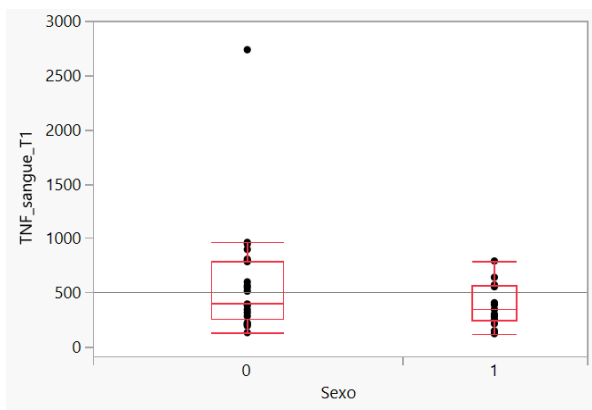
*Teste Mann-Whitney ($p = 0,38$)

Figura 19. IL-1b Saliva x Sexo



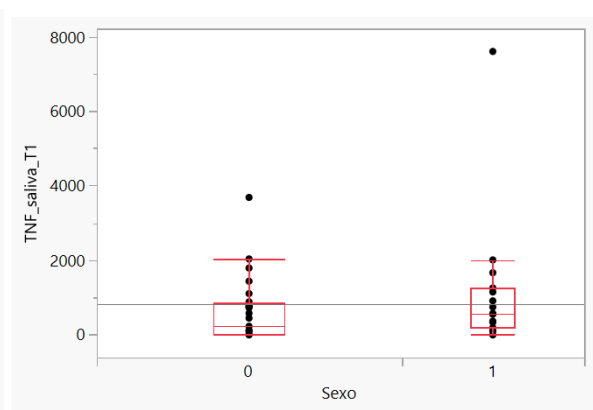
*Teste Mann-Whitney ($p = 0,44$)

Figura 20. TNF Sangue x Sexo



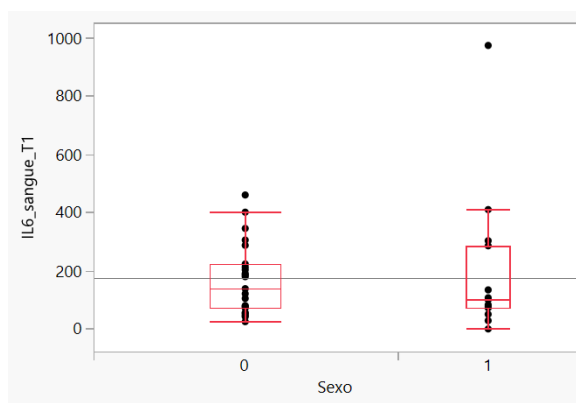
*Teste Mann-Whitney ($p=0,31$)

Figura 21. TNF Saliva x Sexo



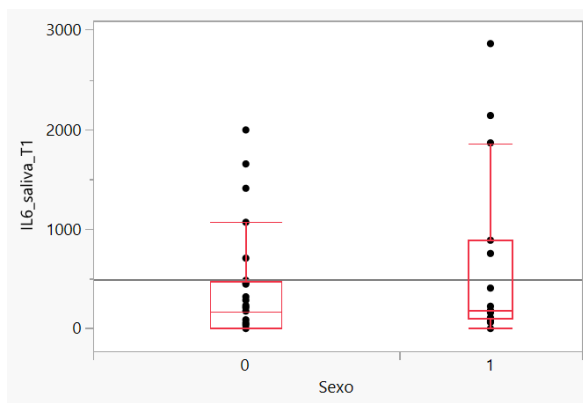
*Teste Mann-Whitney ($p=0,19$)

Figura 22. IL-6 Sangue x Sexo



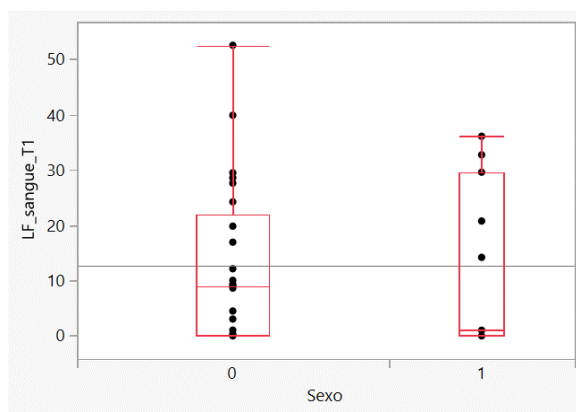
*Teste Mann-Whitney ($p=0,66$)

Figura 23. IL-6 Saliva x Sexo



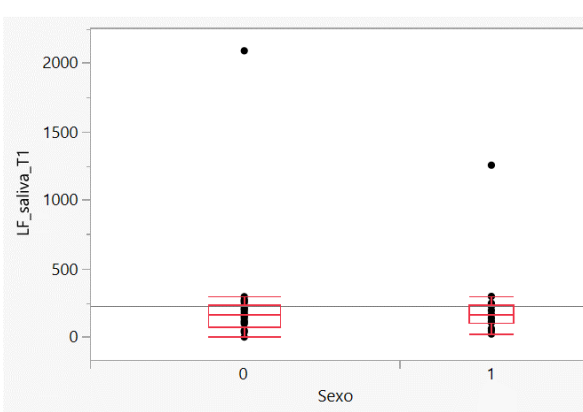
*Teste Mann-Whitney ($p=0,22$)

Figura 24. LF Sangue x Sexo



*Teste Mann-Whitney ($p=0,81$)

Figura 25. LF Saliva x Sexo



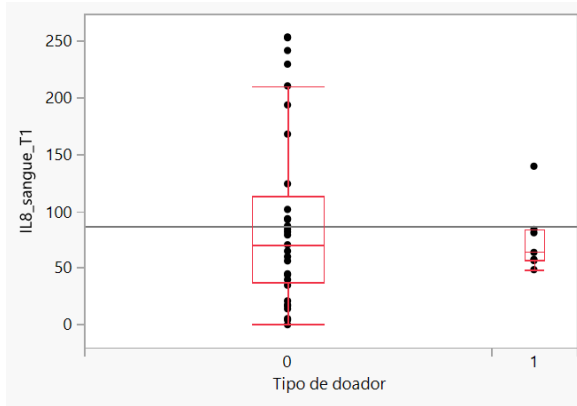
*Teste Mann-Whitney ($p=0,78$)

Tabela 15. Correlação citocinas no sangue e saliva com o **Tipo de Doador**

	Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum	P-valor (*)
IL-8 Sangue	0	0	8,81	37,115	70,13	112,41	235,854	252,54	0,86
	1	48,3	48,3	56,28	63,49	83,63	139,09	139,09	
IL-8 Saliva	0	275,58	377,674	466,41	763,55	929,38	1228,646	1913,09	0,64
	1	267,58	267,58	329,6	631,18	1048,3	1518,15	1518,15	
IL-1b Sangue	0	115,37	186,172	254,67	479,93	711,685	1415,544	2462,03	0,75
	1	158,31	158,31	191,48	336,75	963,38	1331,71	1331,71	
IL-1b Saliva	0	0	0	130,735	194,17	493,5	748,77	1062,93	0,06
	1	192,47	192,47	321,53	401,04	625,36	769,5	769,5	
TNF Sangue	0	119,28	168,174	263,7	379,04	617,675	853,916	2735,48	0,75
	1	192,37	192,37	222,99	396,77	805,79	946,01	946,01	
TNF saliva	0	0	0	0	577,74	1204,71	2026,358	7595,18	0,64
	1	0	0	20,94	450,17	582,7	1108,48	1108,48	
IL-6 Sangue	0	0	33,966	72,54	107,05	217,49	378,26	972,51	0,80
	1	46,36	46,36	56,13	82,9	305,03	459,56	459,56	
IL-6 Saliva	0	0	0	45,18	173,16	606,69	1941,722	2860,32	0,34
	1	0	0	97,11	445,71	706,56	1652,85	1652,85	
LF Sangue	0	0	0	0	4,49	22,535	34,71	52,48	0,46
	1	0	0	1,04	9,3	29,56	39,84	39,84	
LF Saliva	0	0	27,858	84,04	163,16	238,61	296,57	2090,36	0,91
	1	0	0	97,67	211,31	247,28	252,62	252,62	

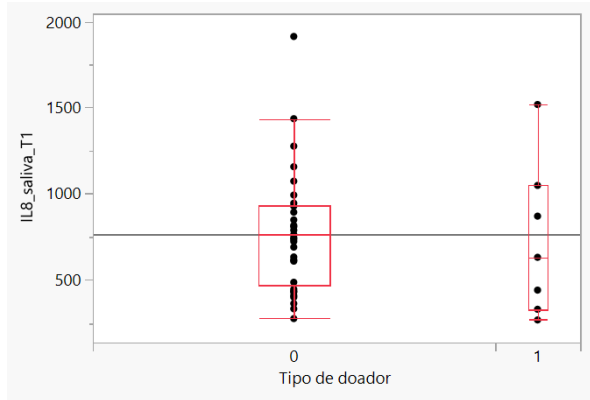
*Teste Mann-Whitney

Figura 26. IL-8 Sangue x Tipo de Doador



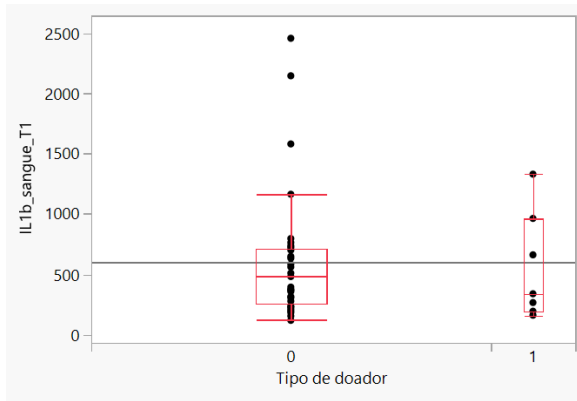
*Teste Mann-Whitney (p=0,86)

Figura 27. IL-8 Saliva x Tipo de Doador



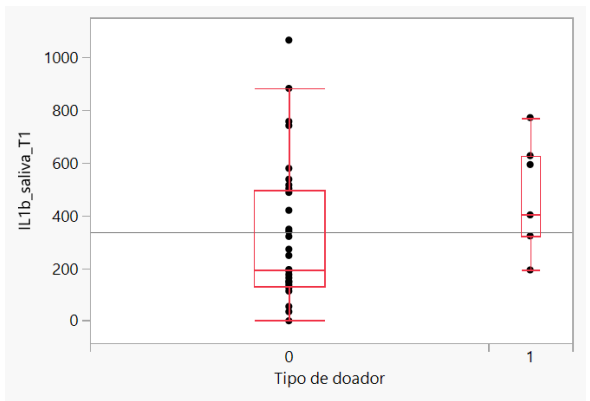
*Teste Mann-Whitney (p=0,64)

Figura 28. IL-1b Sangue x Tipo de Doador



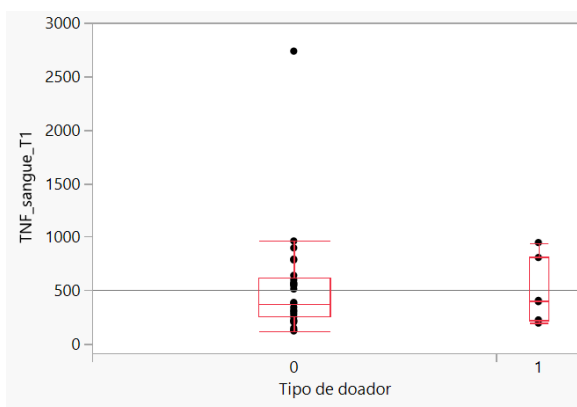
*Teste Mann-Whitney (p=0,75)

Figura 29. IL-1b Saliva x Tipo de Doador



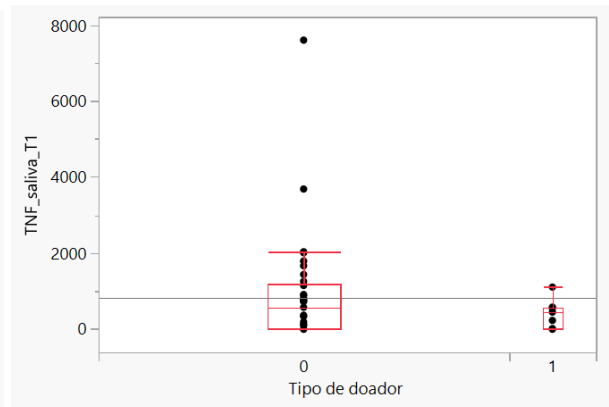
*Teste Mann-Whitney (p=0,06)

Figura 30. TNF Sangue x Tipo de Doador



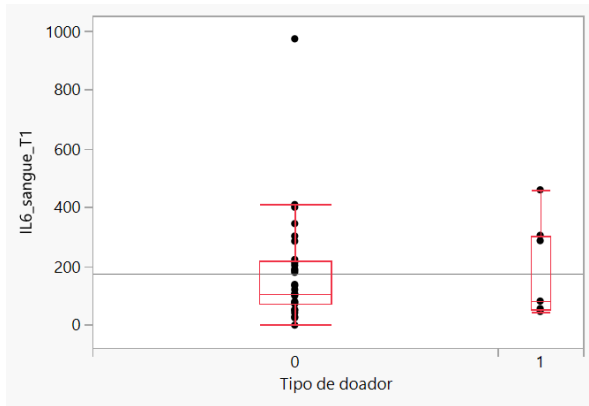
*Teste Mann-Whitney (p=0,75)

Figura 31. TNF Saliva x Tipo de Doador



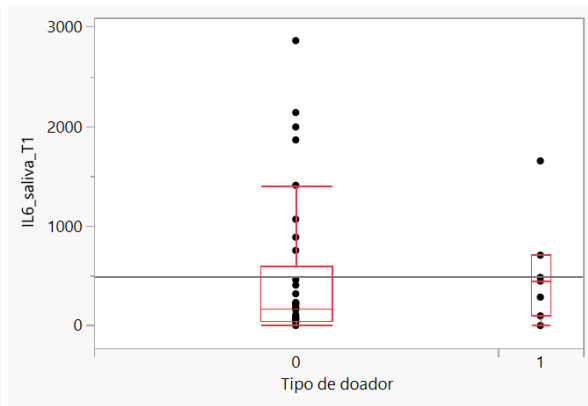
*Teste Mann-Whitney (p=0,64)

Figura 32. IL-6 Sangue x Tipo de Doador



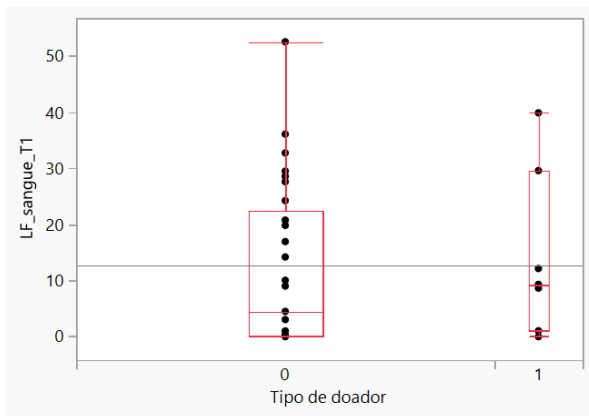
*Teste Mann-Whitney (p=0,80)

Figura 33. IL-6 Saliva x Tipo de Doador



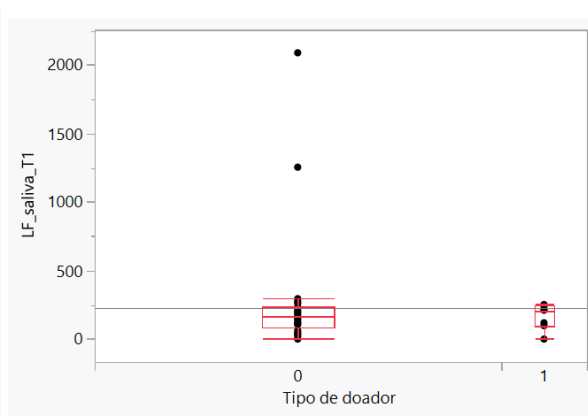
*Teste Mann-Whitney (p=0,34)

Figura 34. LF Sangue x Tipo de Doador



*Teste Mann-Whitney (p=0.46)

Figura 35. LF Saliva x Tipo de Doador



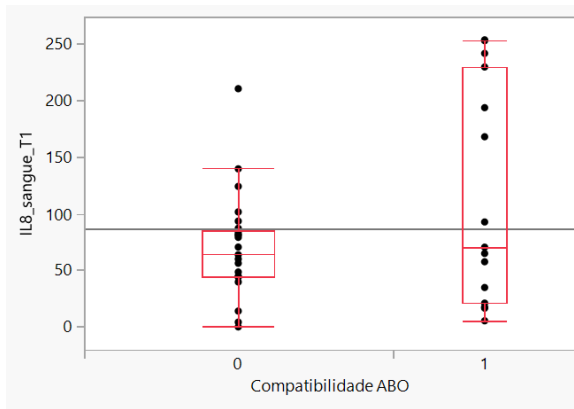
*Teste Mann-Whitney (p=0.91)

Tabela 16. Correlação citocinas no sangue e saliva com o **Compatibilidade ABO**

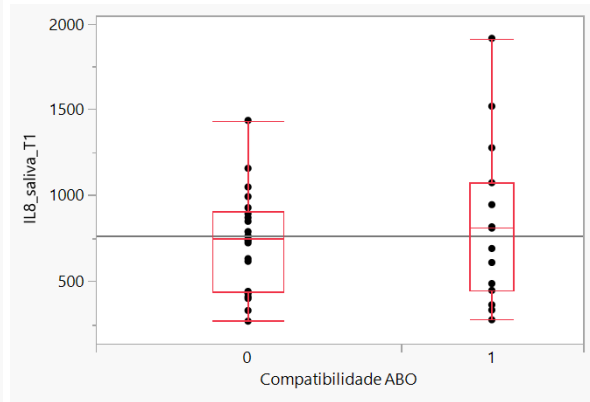
	Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum	P-valor (*)
IL-8 Sangue	0	0	10,052	44,17	63,49	85,28	129,82	209,59	0,39
	1	5,39	12,044	20,94	70,13	228,66	252,114	252,54	
IL-8 Saliva	0	267,58	371,57	437,66	745,84	910,545	1091,744	1435,69	0,70
	1	275,58	309,636	446,44	808,77	1073,02	1676,126	1913,09	
IL-1b Sangue	0	115,37	178,212	220,24	375,09	680,28	1231,336	2149,89	0,39
	1	151,61	168,956	275,56	509,06	762,94	1934,588	2462,03	
IL-1b Saliva	0	34,59	89,176	169,325	322,09	556,625	745,62	879,92	0,19
	1	0	0	0	194,17	347	886,872	1062,93	
TNF Sangue	0	129,17	198,304	236,56	343,82	556,975	828,218	946,01	0,28
	1	119,28	134,982	277,27	513,47	791,06	1670,54	2735,48	
TNF saliva	0	0	0	107,855	582,7	1129,68	1879,586	2037,23	0,27
	1	0	0	0	104,67	813,48	5249,042	7595,18	
IL-6 Sangue	0	24,99	39,236	64,15	120,8	255,345	370,708	972,51	0,76
	1	0	25,254	77,56	101,08	203,02	424,148	459,56	
IL-6 Saliva	0	0	0	81,31	285	820,13	1915,718	2860,32	0,08
	1	0	0	0	88,79	223,64	1700,074	2138,26	
LF Sangue	0	0	0	0	4,49	20,375	37,584	52,48	0,70
	1	0	0	0	9,3	28,54	34,04	36,05	
LF Saliva	0	0	0	48,285	122,82	238,61	264,23	272,69	0,11
	1	47,81	56,672	139,18	184,63	295,28	1589,21	2090,36	

*Teste Mann-Whitney

Figura 36. IL-8 Sangue x Compatibilidade ABO **Figura 37. IL-8 Saliva x Compatibilidade ABO**

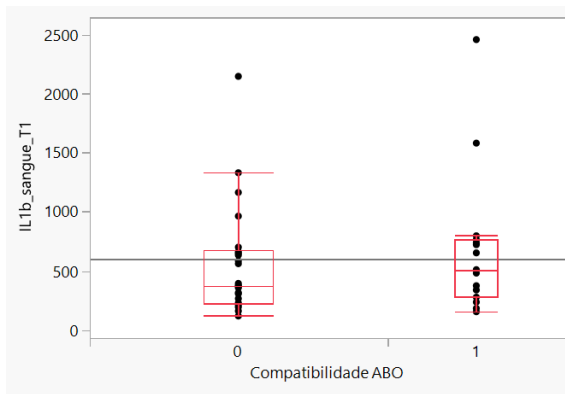


*Teste Mann-Whitney (p=0,39)

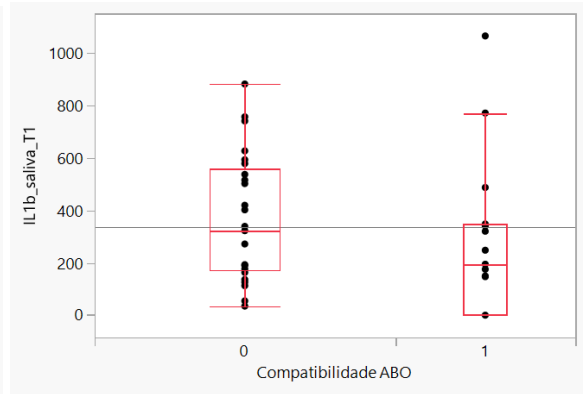


*Teste Mann-Whitney (p=0,70)

Figura 38. IL-1b Sangue x Compatibilidade ABO **Figura 39. IL-1b Saliva x Compatibilidade ABO**

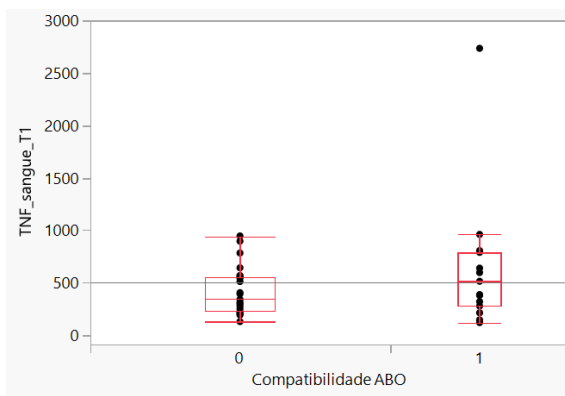


*Teste Mann-Whitney (p=0,39)

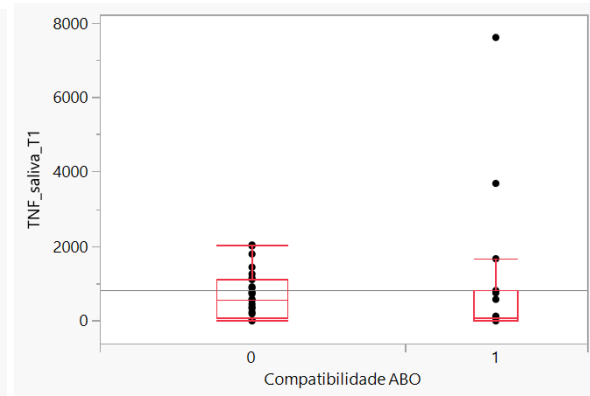


*Teste Mann-Whitney (p=0,19)

Figura 40. TNF Sangue x Compatibilidade ABO **Figura 41. TNF Saliva x Compatibilidade ABO**

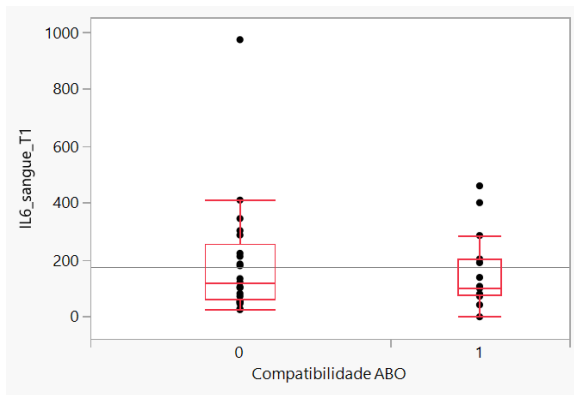


*Teste Mann-Whitney (p=0,28)

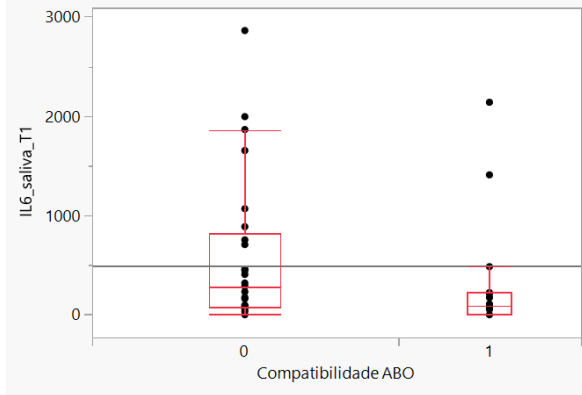


*Teste Mann-Whitney (p=0,27)

Figura 42. IL-6 Sangue x Compatibilidade ABO **Figura 43.** IL-6 Saliva x Compatibilidade ABO

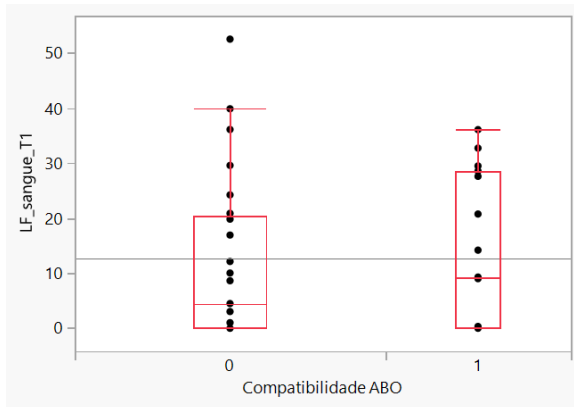


*Teste Mann-Whitney (p=0,76)

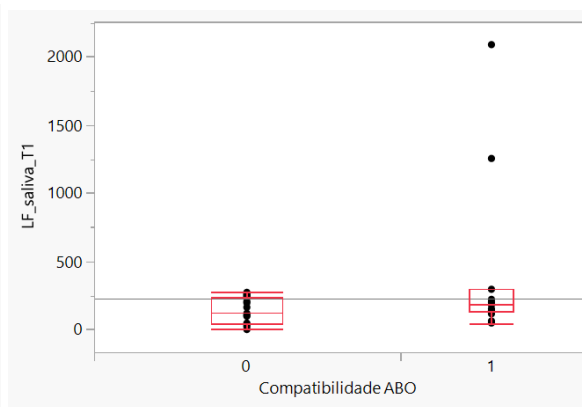


*Teste Mann-Whitney (p=0,08)

Figura 44. LF Sangue x Compatibilidade ABO **Figura 45.** LF Saliva x Compatibilidade ABO



*Teste Mann-Whitney (p=0,70)



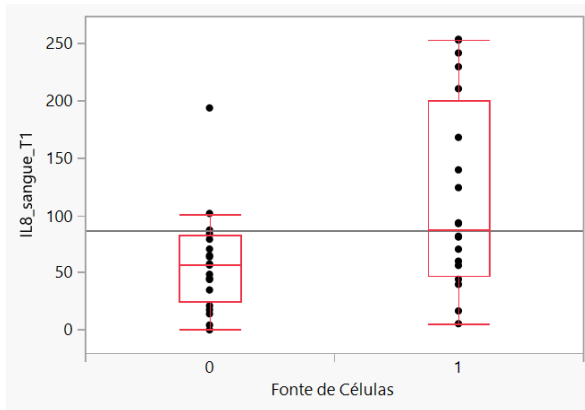
*Teste Mann-Whitney (p=0,11)

Tabela 17. Correlação citocinas no sangue e saliva com o **Fonte de Células**

	Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum	P-valor (*)
IL-8 Sangue	0	0	5,192	24,37	56,8	82,4175	99,737	192,88	0,0029
	1	5,39	18,789	47,2875	86,875	199,015	250,712	252,54	
IL-8 Saliva	0	275,58	332,949	518,7525	754,695	915,4725	1146,049	1518,15	0,93
	1	267,58	340,086	436,065	762,61	941,1325	1419,768	1913,09	
IL-1b Sangue	0	158,31	191,797	228,97	494,495	716,4025	2051,343	2462,03	0,88
	1	115,37	154,501	241,235	383,745	727,02	1278,179	1582,96	
IL-1b Saliva	0	0	3,459	134,9325	321,81	594,245	768,057	1062,93	0,62
	1	0	11,24	147,27	220,73	507,2725	590,277	879,92	
TNF Sangue	0	129,17	193,359	215,355	342,545	587,9025	804,119	2735,48	0,38
	1	119,28	152,865	283,465	457,88	641,2675	940,991	960,58	
TNF saliva	0	0	0	5,235	395,115	1059,75	2012,768	3684,95	0,97
	1	0	0	0	566,11	1066,53	1953,076	7595,18	
IL-6 Sangue	0	0	25,346	48,8025	111,325	220,91	340,859	459,56	0,11
	1	50,35	54,854	77,71	105,845	269,6375	408,613	972,51	
IL-6 Saliva	0	0	0	22,1975	221,425	456,075	868,425	1066,59	0,87
	1	0	0	57,085	103,01	1591,625	2123,807	2860,32	
LF Sangue	0	0	0	0	6,895	26,7375	39,464	52,48	0,90
	1	0	0	0	8,82	20,83	32,386	36,05	
LF Saliva	0	0	2,189	59,795	145,755	217,865	264,63	2090,36	0,32
	1	0	47,969	106,267	198,02	245,425	297,215	1255,11	

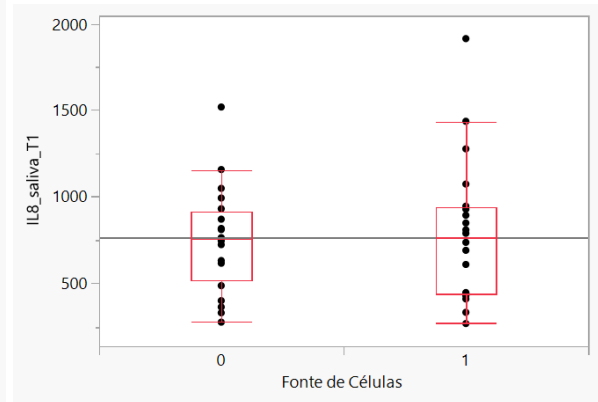
*Teste Mann-Whitney

Figura 46. IL-8 Sangue x Fonte de Células



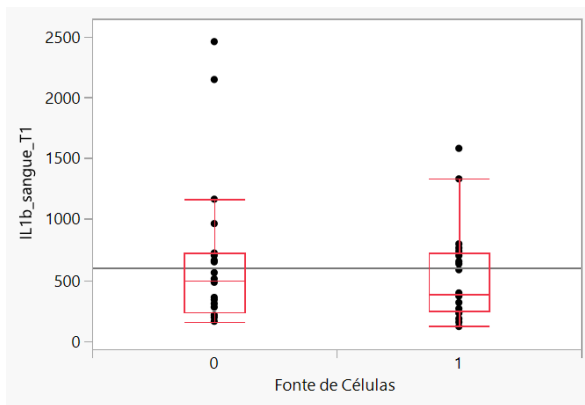
*Teste Mann-Whitney (p=0,0029)

Figura 47. IL-8 Saliva x Fonte de Células



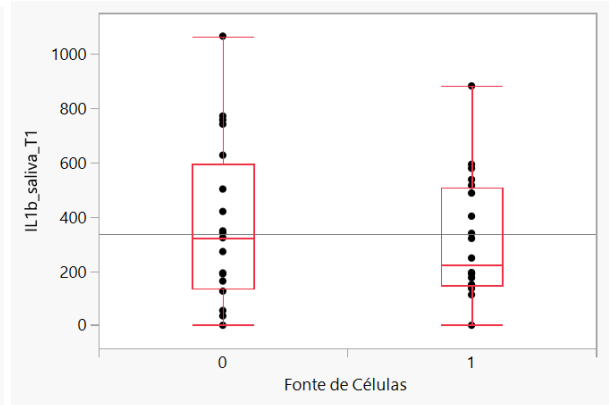
*Teste Mann-Whitney (p=0,93)

Figura 48. IL-1b Sangue x Fonte de Células



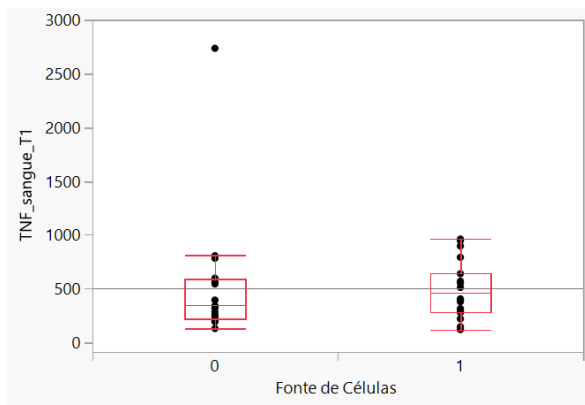
*Teste Mann-Whitney (p=0,88)

Figura 49. IL-1b Saliva x Fonte de Células



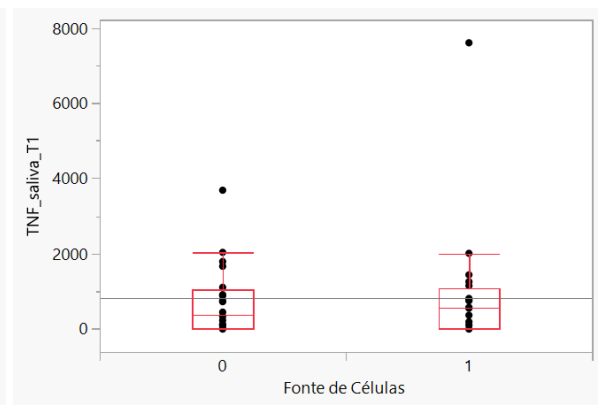
*Teste Mann-Whitney (p=0,62)

Figura 50. TNF Sangue x Fonte de Células



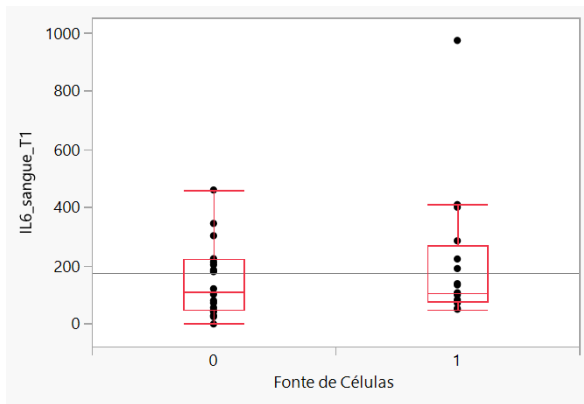
*Teste Mann-Whitney (p=0,38)

Figura 51. TNF Saliva x Fonte de Células

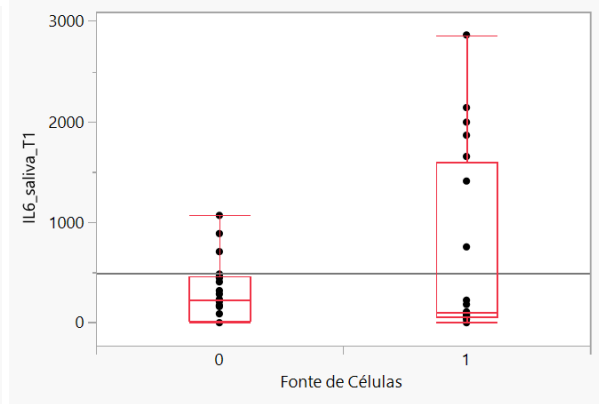


*Teste Mann-Whitney (p=0,97)

Figura 52. IL-6 Sangue x Fonte de Células **Figura 53.** IL-6 Saliva x Fonte de Células

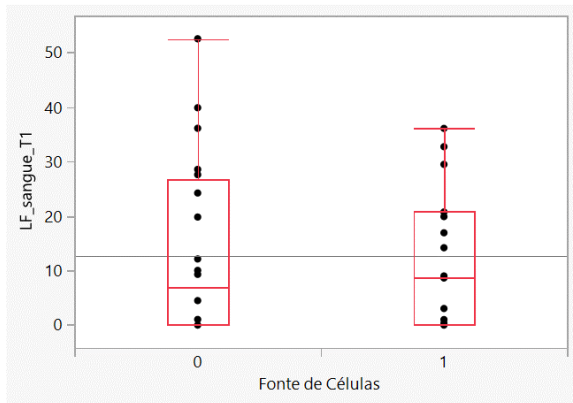


*Teste Mann-Whitney (p=0,11)

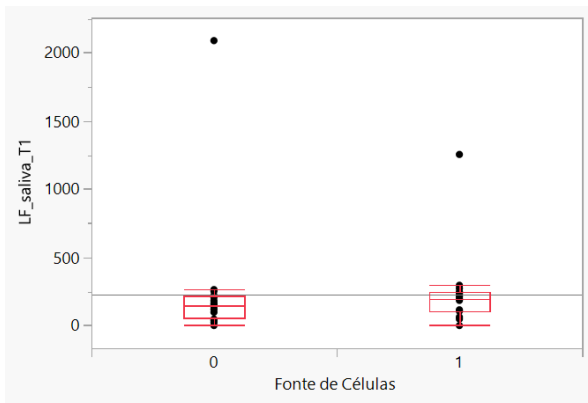


*Teste Mann-Whitney (p=0,87)

Figura 54. LF Sangue x Fonte de Células **Figura 55.** LF Saliva x Fonte de Células



*Teste Mann-Whitney (p=0,90)



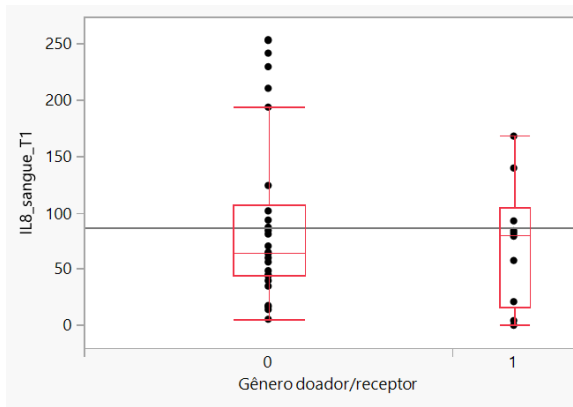
*Teste Mann-Whitney (p=0,32)

Tabela 18. Correlação citocinas no sangue e saliva com o **Gênero doador/receptor**

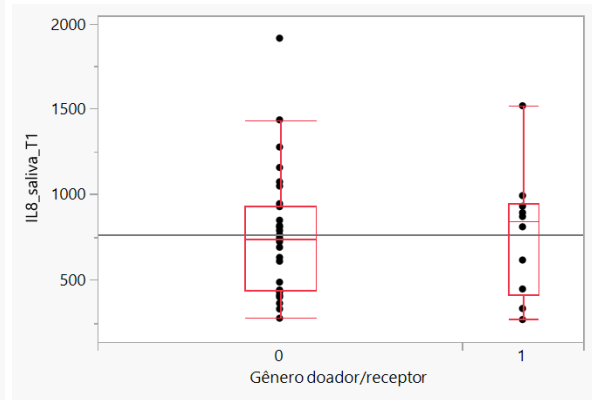
	Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maxim um	P-valor (*)
IL-8 Sangue	0	5,39	16,581	43,92	64,07	106,795	239,451	252,54	0,81
	1	0	0,422	16,76	80,1	104,02	164,47	167,29	
IL-8 Saliva	0	275,58	366,736	439,255	741,19	932,4775	1264,514	1913,09	0,77
	1	267,58	274,056	417,915	840,045	946,0775	1465,583	1518,15	
IL-1b Sangue	0	115,37	160,531	263,43	519,75	742,765	1557,835	2462,03	0,34
	1	191,48	191,797	223,9975	346,22	660,795	786,756	796,4	
IL-1b Saliva	0	0	3,459	143,8125	283,38	504,2575	753,495	1062,93	0,78
	1	0	12,569	143,63	305,435	558,31	755,086	769,5	
TNF Sangue	0	119,28	150,142	270,485	400,75	639,6225	885,344	2735,48	0,63
	1	202,26	203,315	217,9025	360,155	586,55	931,988	946,01	
TNF saliva	0	0	0	83,7375	566,11	1177,795	1988,306	7595,18	0,20
	1	0	0	0	49,465	942,385	1944,355	2037,23	
IL-6 Sangue	0	0	42,517	72,165	101,465	205,295	300,971	972,51	0,12
	1	24,99	27,784	73,39	238,465	358,765	453,658	459,56	
IL-6 Saliva	0	0	0	62,3725	178,43	533,11	1980,728	2860,32	0,75
	1	0	0	0	203,92	796,5675	1594,224	1652,85	
LF Sangue	0	0	0	0	2,04	25,2925	36,077	52,48	0,60
	1	0	0	6,4725	9,665	21,8125	29,272	29,46	
LF Saliva	0	0	24,418	88,8975	145,755	237,99	292,143	1255,11	0,33
	1	0	3,681	101,3175	205,905	266,705	1908,593	2090,36	

*Teste Mann-Whitney

Figura 56. IL-8 Sangue x Gênero doador/receptor **Figura 57. IL-8 Saliva x Gênero doador/receptor**

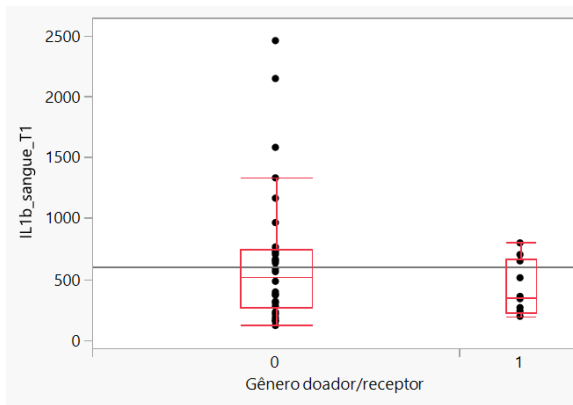


*Teste Mann-Whitney (p=0,81)

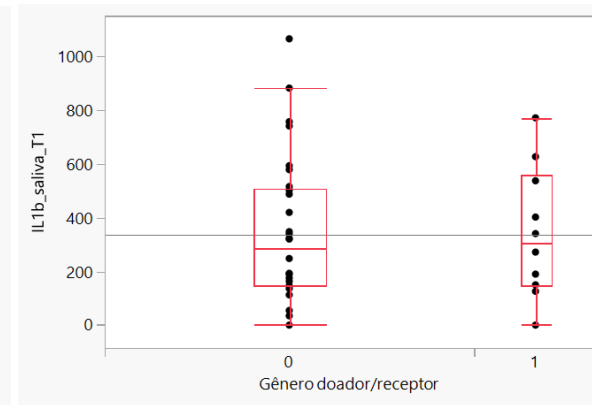


*Teste Mann-Whitney (p=0,77)

Figura 58. IL-1b Sangue x Gênero doador/receptor **Figura 59. IL-1b Saliva x Gênero doador/receptor**

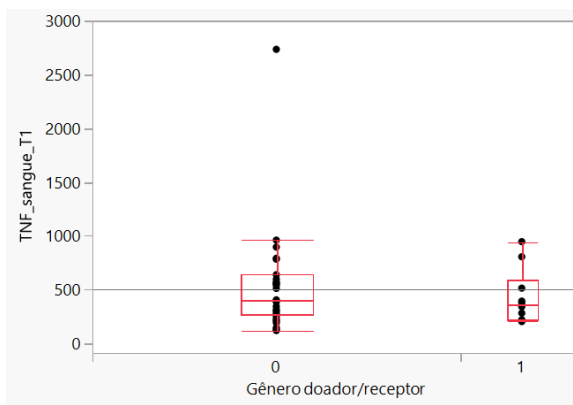


*Teste Mann-Whitney (p=0,34)

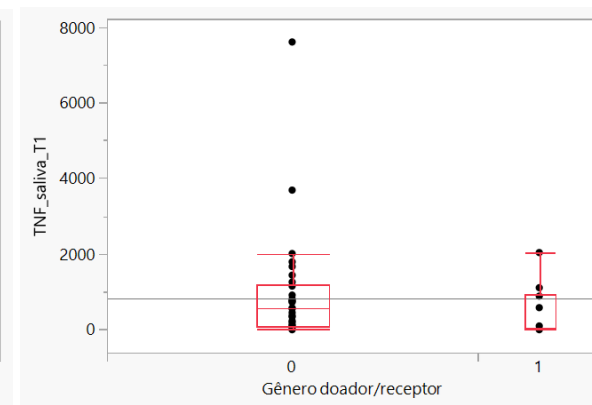


*Teste Mann-Whitney (p=0,78)

Figura 60. TNF Sangue x Gênero doador/receptor **Figura 61. TNF Saliva x Gênero doador/receptor**

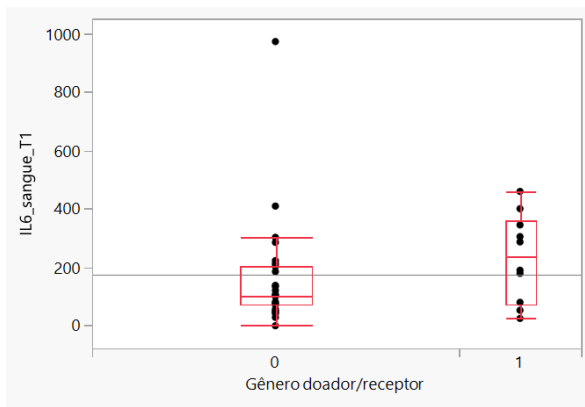


*Teste Mann-Whitney (p=0,63)

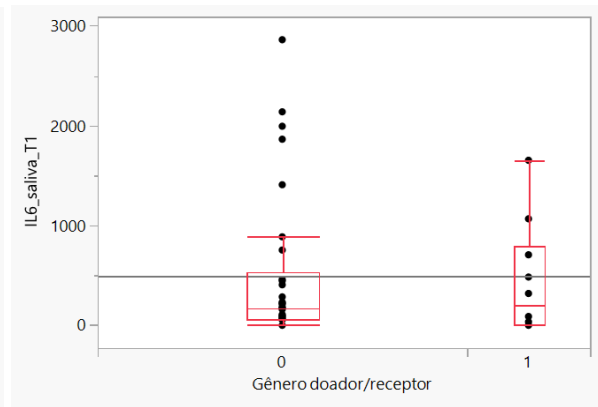


*Teste Mann-Whitney (p=0,20)

Figura 62. IL-6 Sangue x Gênero doador/receptor **Figura 63.** IL-6 Saliva x Gênero doador/receptor

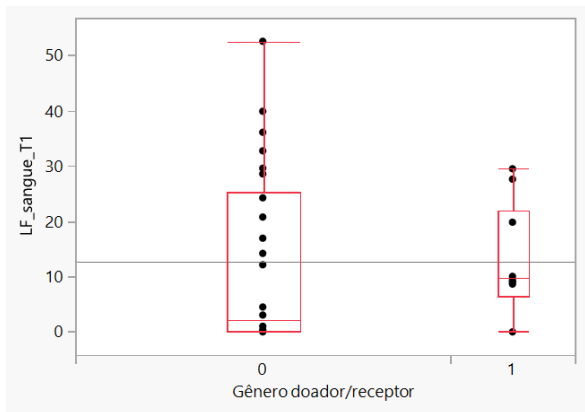


*Teste Mann-Whitney (p=0,12)

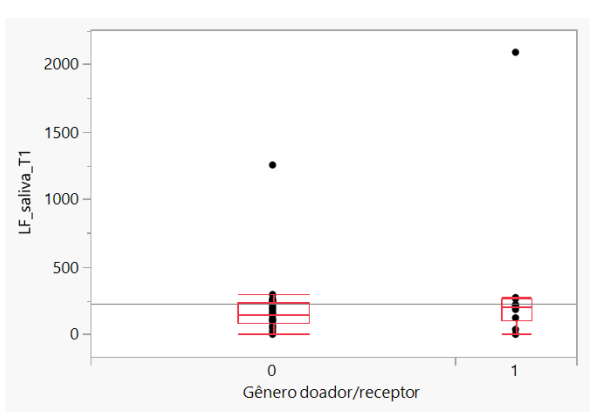


*Teste Mann-Whitney (p=0,75)

Figura 64. LF Sangue x Gênero doador/receptor **Figura 65.** LF Saliva x Gênero doador/receptor



*Teste Mann-Whitney (p=0,60)



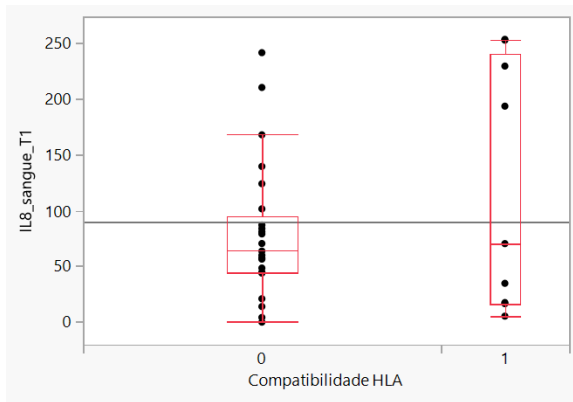
*Teste Mann-Whitney (p=0,33)

Tabela 19. Correlação citocinas no sangue e saliva com o **Compatibilidade HLA**

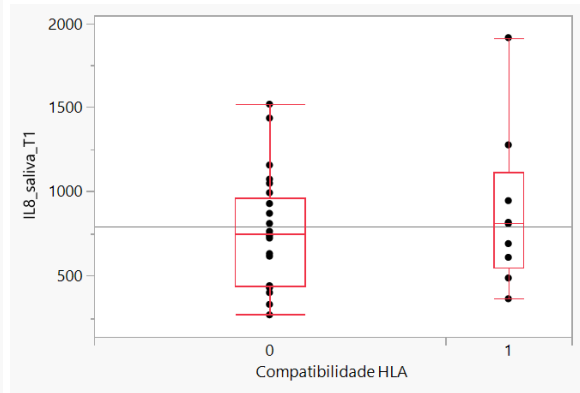
	Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum	P-valor (*)
IL-8 Sangue	0	0	10,052	44,17	63,49	93,965	184,21	240,65	0,72
	1	5,39	5,39	16,985	70,13	240,245	252,54	252,54	
IL-8 Saliva	0	267,58	331,244	437,66	745,84	961,545	1268,422	1518,15	0,64
	1	363,09	363,09	547,605	808,77	1110,965	1913,09	1913,09	
IL-1b Sangue	0	115,37	178,212	220,24	366,86	719,145	1231,336	2149,89	0,53
	1	151,61	151,61	228,04	651,42	1172,95	2462,03	2462,03	
IL-1b Saliva	0	0	46,44	169,325	322,09	553,025	760,842	879,92	0,06
	1	0	0	0	174,92	333,235	486,1	486,1	
TNF Sangue	0	129,17	198,304	236,56	393,28	603,83	841,802	946,01	0,88
	1	119,28	119,28	211,36	386,22	790,07	960,58	960,58	
TNF saliva	0	0	0	59,935	582,7	1204,71	2020,922	7595,18	0,28
	1	0	0	0	127,52	782,66	1667,99	1667,99	
IL-6 Sangue	0	24,99	39,236	76,19	185,27	294,785	429,53	972,51	0,10
	1	0	0	74,855	100,19	122,655	203,02	203,02	
IL-6 Saliva	0	0	0	92,95	405,99	976,5	2051,542	2860,32	0,03
	1	0	0	0	62,41	198,4	1407,95	1407,95	
LF Sangue	0	0	0	0	8,63	25,895	37,584	52,48	0,75
	1	0	0	0	0,34	30,62	36,05	36,05	
LF Saliva	0	0	0	72,42	166,74	243,565	660,87	2090,36	0,85
	1	47.81	47.81	88.975	138,45	260,475	297,43	297,43	

*Teste Mann-Whitney

Figura 66. IL-8 Sangue x Compatibilidade HLA **Figura 67. IL-8 Saliva x Compatibilidade HLA**

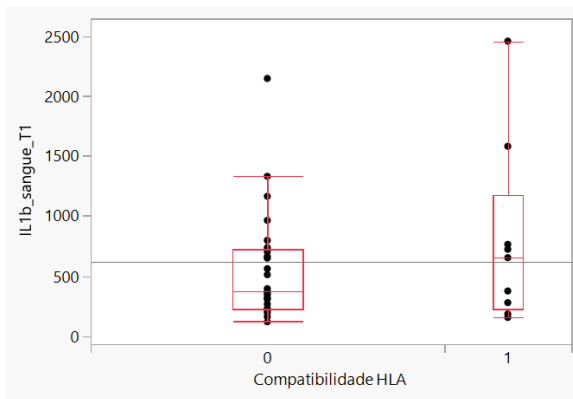


*Teste Mann-Whitney (p=0,72)

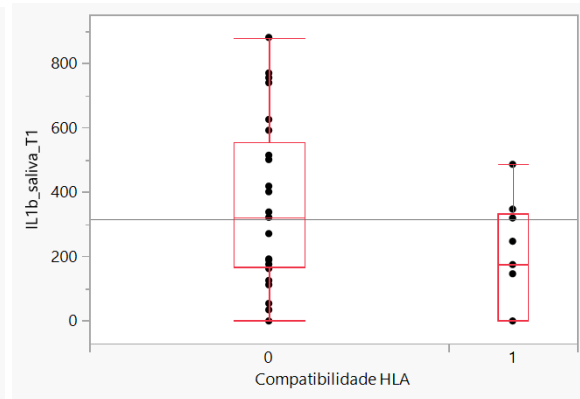


*Teste Mann-Whitney (p=0,64)

Figura 68. IL-1b Sangue x Compatibilidade HLA **Figura 69. IL-1b Saliva x Compatibilidade HLA**

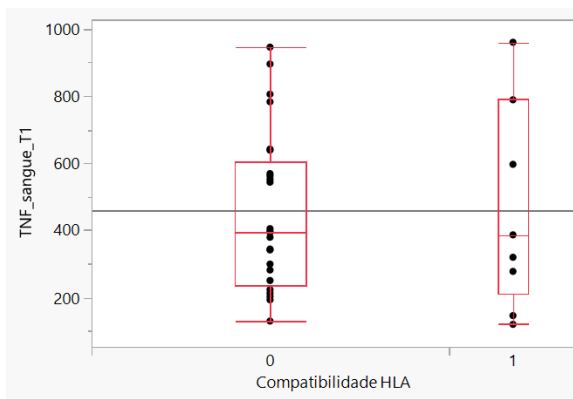


*Teste Mann-Whitney (p=0,53)

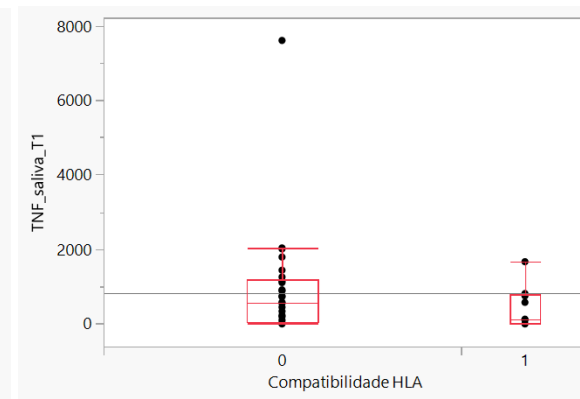


*Teste Mann-Whitney (p=0,06)

Figura 70. TNF Sangue x Compatibilidade HLA **Figura 71. TNF Saliva x Compatibilidade HLA**

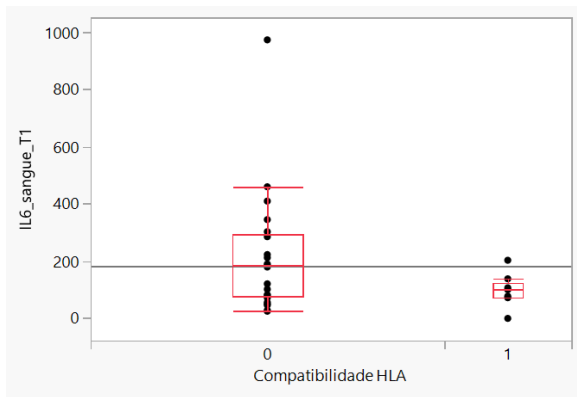


*Teste Mann-Whitney (p=0,88)

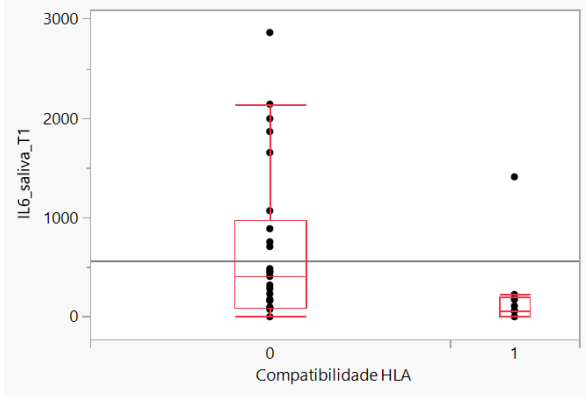


*Teste Mann-Whitney (p=0,28)

Figura 72. IL-6 Sangue x Compatibilidade HLA **Figura 73. IL-6 Saliva x Compatibilidade HLA**

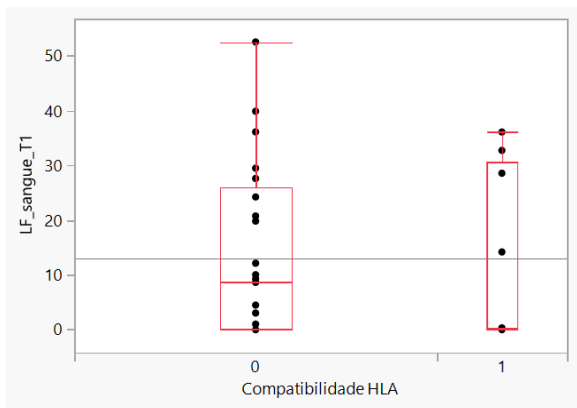


*Teste Mann-Whitney (p=0,10)

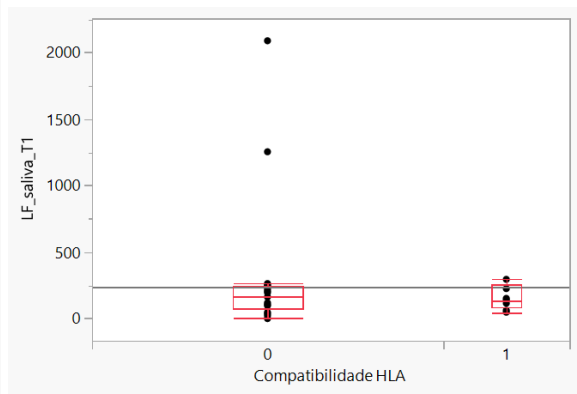


*Teste Mann-Whitney (p= 0,03)

Figura 74. LF Sangue x Compatibilidade HLA **Figura 75. LF Saliva x Compatibilidade HLA**



*Teste Mann-Whitney (p=0,75)



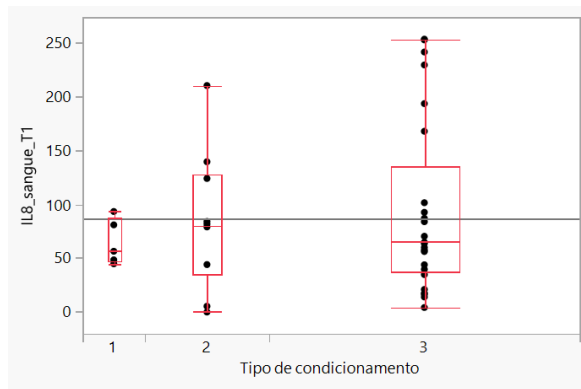
*Teste Mann-Whitney (p=0,85)

Tabela 20. Correlação citocinas no sangue e saliva com o Tipo condicionamento

	Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum	P-valor (*)
IL-8 Sangue	1	44,68	44,68	46,49	56,28	86,87	93,07	93,07	0,97
	2	0	0,539	34,3175	80,1	127,5025	202,54	209,59	
	3	4,22	15,464	37,115	64,65	134,235	245,122	252,54	
IL-8 Saliva	1	329,6	329,6	385,225	631,18	807,955	848,54	848,54	0,53
	2	267,58	283,762	433,2025	814,74	1226,605	1865,35	1913,09	
	3	275,58	350,79	466,41	763,55	936,805	1154,4	1518,15	
IL-1b Sangue	1	158,31	158,31	370,75	660,6	1740,8	2149,89	2149,89	0,37
	2	115,37	123,298	246,3625	369,895	660,795	702,021	702,25	
	3	151,61	187,096	230,41	479,93	749,49	1331,836	2462,03	
IL-1b Saliva	1	54,34	54,34	95,06	192,47	456,905	591,72	591,72	0,67
	2	112,4	113,729	173,4125	369,595	519,7375	845,524	879,92	
	3	0	0	148,05	271,06	539,095	760,842	1062,93	
TNF Sangue	1	222,99	222,99	250,615	396,77	483,345	561,96	561,96	0,91
	2	219,6	225,778	294,7	365,02	587,1675	915,618	946,01	
	3	119,28	138,938	212,48	393,28	786,115	921,724	2735,48	
TNF saliva	1	0	0	116,34	369,35	502,325	554,48	554,48	0,64
	2	0	0	78,5025	734,86	1177,795	1934,899	2010,05	
	3	0	0	0	577,74	1274,395	2696,318	7595,18	
IL-6 Sangue	1	46,36	46,36	51,245	82,9	178,915	223,84	223,84	0,33
	2	50,35	50,608	67,36	233,095	361,0075	916,21	972,51	
	3	0	27,126	75,235	101,85	207,57	343,234	459,56	
IL-6 Saliva	1	0	0	0	97,11	233,315	285	285	0,25
	2	0	3,5	64,7	536,45	1705,565	2760,659	2860,32	
	3	0	0	58,81	175,23	471,63	1642,262	2138,26	
LF Sangue	1	4,49	4,49	8,31	20,86	34,7	39,84	39,84	0,07
	2	0	0	0	0,51	12,475	19,882	19,89	
	3	0	0	0	9,01	28,06	36,062	52,48	
LF Saliva	1	119,32	119,32	141,24	237,37	249,95	252,62	252,62	0,51
	2	21,89	25,959	94,77	159,18	246,065	271,892	272,69	
	3	0	0	48,605	152,06	223,58	680,502	2090,36	

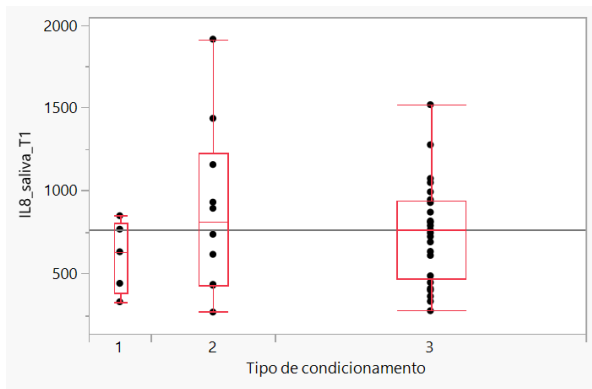
*Teste Kruskal-Wallis

Figura 76. IL-8 Sangue x Tipo condicionamento



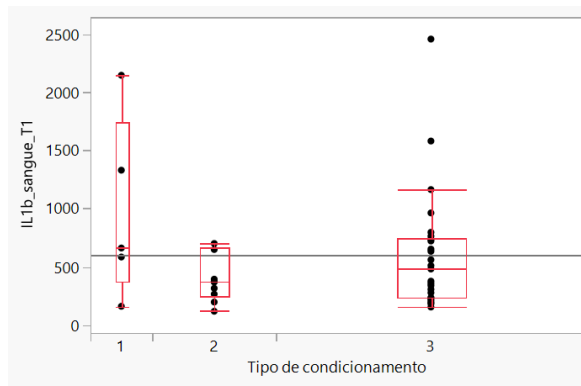
*Teste Kruskal-Wallis (p=0,97)

Figura 77. IL-8 Saliva x Tipo condicionamento



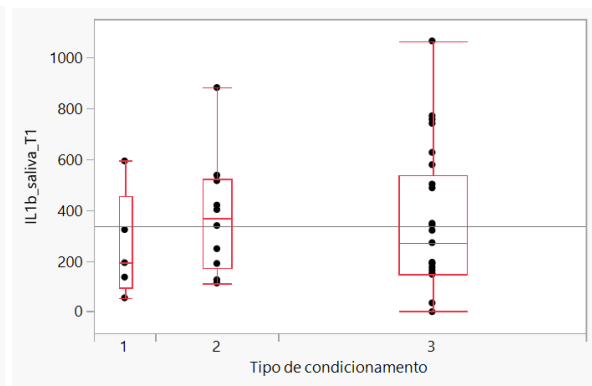
*Teste Kruskal-Wallis (p=0,53)

Figura 78. IL-1b Sangue x Tipo condicionamento



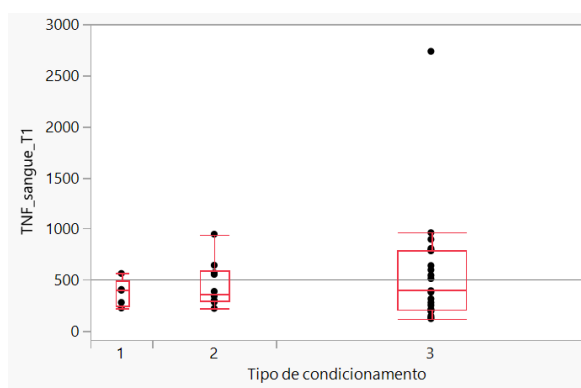
*Teste Kruskal-Wallis (p=0,37)

Figura 79. IL-1b Saliva x Tipo condicionamento



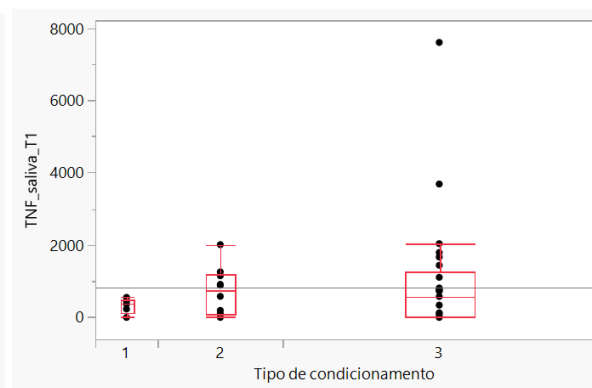
*Teste Kruskal-Wallis (p=0,67)

Figura 80. TNF Sangue x Tipo condicionamento



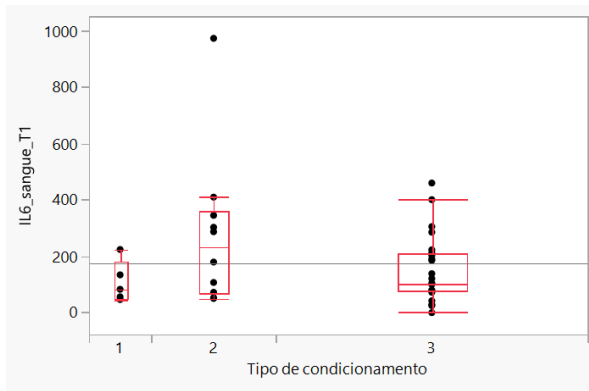
*Teste Kruskal-Wallis (p=0,91)

Figura 81. TNF Saliva x Tipo condicionamento



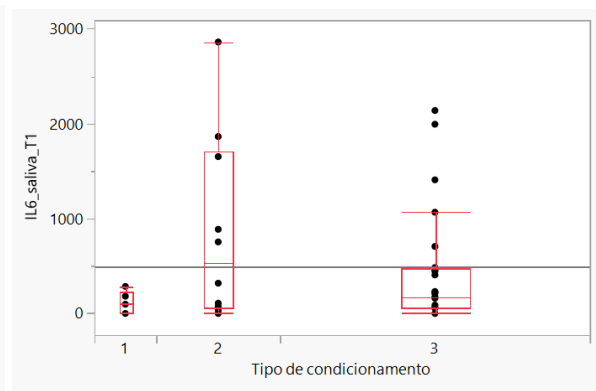
*Teste Kruskal-Wallis (p=0,64)

Figura 82. IL-6 Sangue x Tipo condicionamento



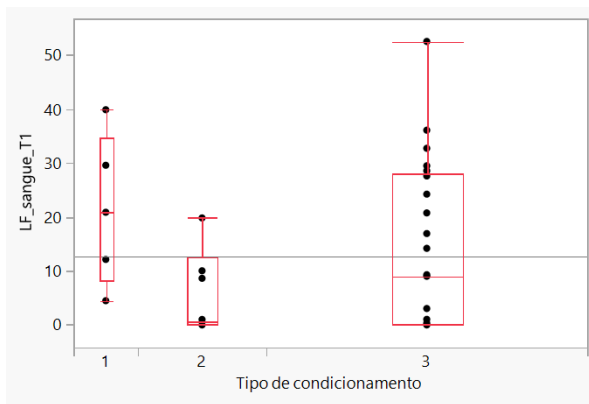
*Teste Kruskal-Wallis (p=0,33)

Figura 83. IL-6 Saliva x Tipo condicionamento



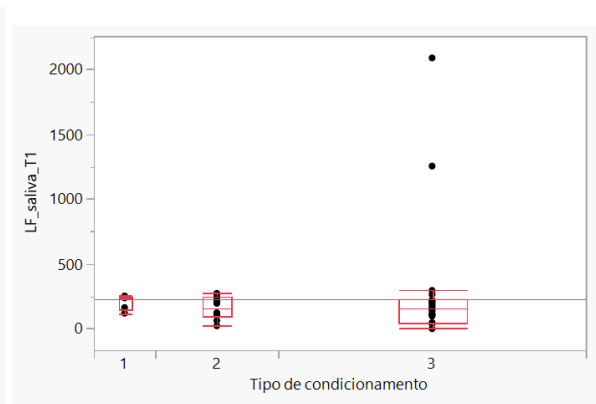
*Teste Kruskal-Wallis (p=0,25)

Figura 84. LF Sangue x Tipo condicionamento



*Teste Kruskal-Wallis (p=0,07)

Figura 85. LF Saliva x Tipo condicionamento



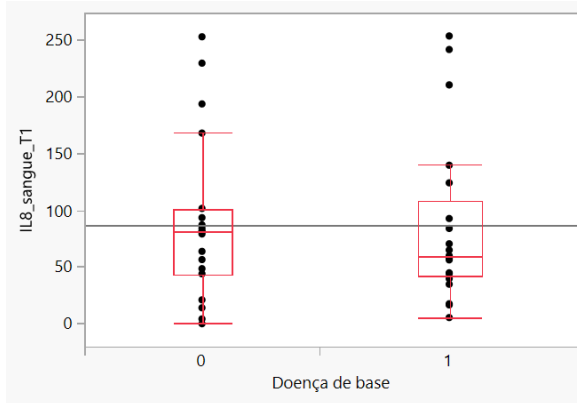
*Teste Kruskal-Wallis (p=0,51)

Tabela 21. Correlação citocinas no sangue e saliva com o **Doença de base**

	Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum	P-valor (*)
IL-8 Sangue	0	0	4,22	43,8	80,67	101,18	228,66	251,83	0,67
	1	5,39	16,682	41,765	59,74	107,985	234,438	252,54	
IL-8 Saliva	0	329,6	332,34	615,87	808,77	930,61	1048,3	1156,91	0,66
	1	267,58	293,082	431,935	723,27	1000,585	1501,658	1913,09	
IL-1b Sangue	0	158,31	194,65	304,6	647,74	762,94	1331,71	2462,03	0,17
	1	115,37	157,392	230,41	366,86	676,755	1499,252	2149,89	
IL-1b Saliva	0	0	0	135,78	319,47	486,1	591,72	739,32	0,65
	1	0	10,868	148,05	247,29	601,325	857,836	1062,93	
TNF Sangue	0	119,28	129,17	202,26	250,13	343,82	404,73	783,15	<.0001
	1	277,27	302,036	452,155	568,86	798,425	957,666	2735,48	
TNF saliva	0	0	0	0	340,06	747,85	1792,61	2037,23	0,23
	1	0	0	0	751,84	1349,425	3349,97	7595,18	
IL-6 Sangue	0	24,99	28,55	56,13	100,19	190,08	302,72	344,84	0,26
	1	0	43,742	72,54	120,8	295,94	449,55	972,51	
IL-6 Saliva	0	0	0	35	181,63	405,99	886,41	1066,59	0,40
	1	0	0	58,81	175,23	1530,4	2109,354	2860,32	
LF Sangue	0	0	0	1,04	20,86	29,56	36,08	39,84	0,0040
	1	0	0	0	0,34	9,155	19,976	52,48	
LF Saliva	0	0	21,89	97,67	166,74	247,28	272,69	2090,36	0,85
	1	0	9.562	85,04	163,16	230,67	297	1255,11	

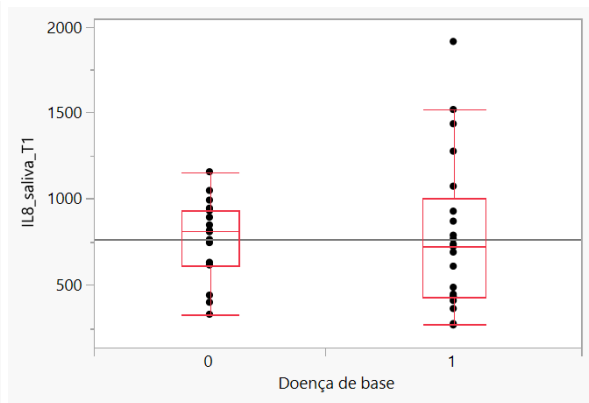
*Teste Mann-Whitney

Figura 86. IL-8 Sangue x Doença de base



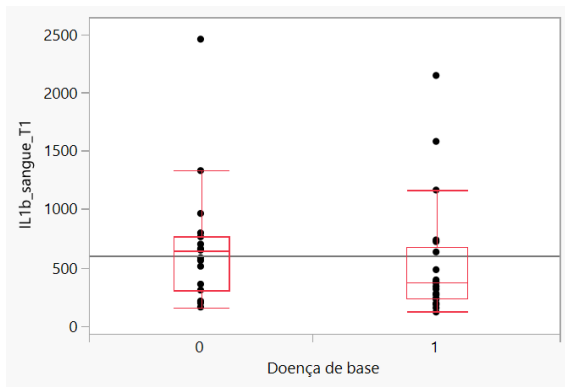
*Teste Mann-Whitney (p=0,67)

Figura 87. IL-8 Saliva x Doença de base



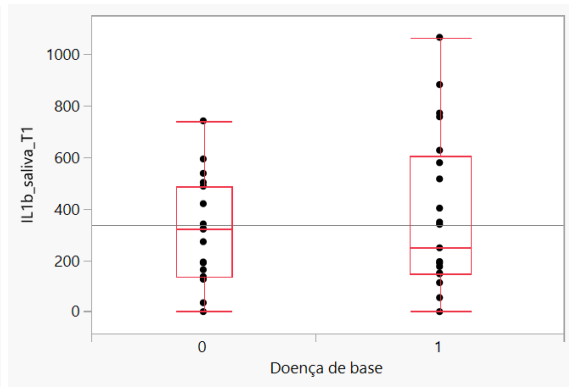
*Teste Mann-Whitney (p=0,66)

Figura 88. IL-1b Sangue x Doença de base



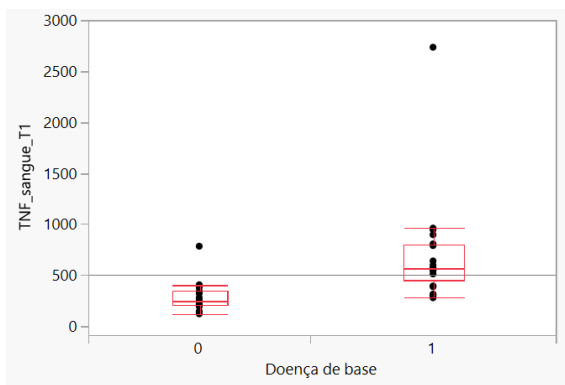
*Teste Mann-Whitney (p=0,17)

Figura 89. IL-1b Saliva x Doença de base



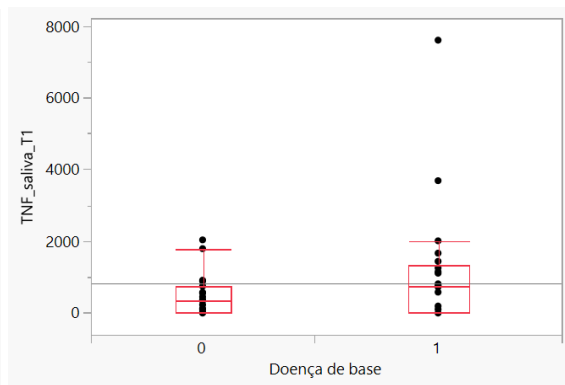
*Teste Mann-Whitney (p=0,65)

Figura 90. TNF Sangue x Doença de base



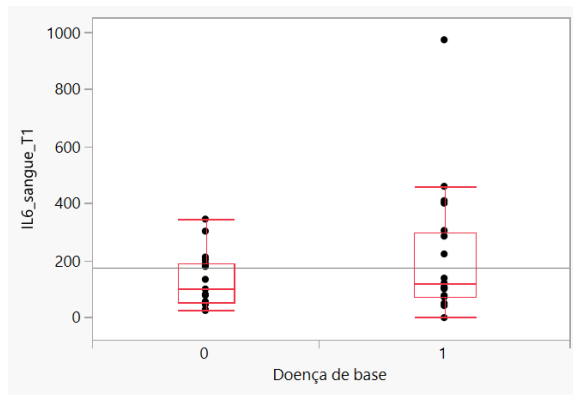
*Teste Mann-Whitney (p<.0001)

Figura 91. TNF Saliva x Doença de base



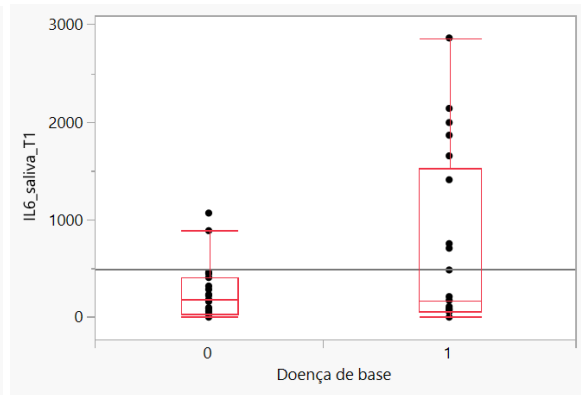
*Teste Mann-Whitney (p=0,23)

Figura 92. IL-6 Sangue x Doença de base



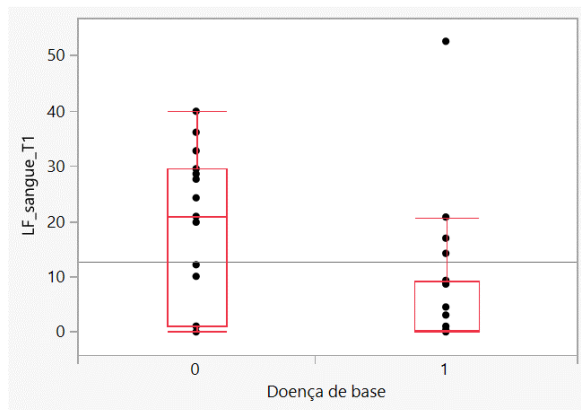
*Teste Mann-Whitney (p=0,26)

Figura 93. IL-6 Saliva x Doença de base



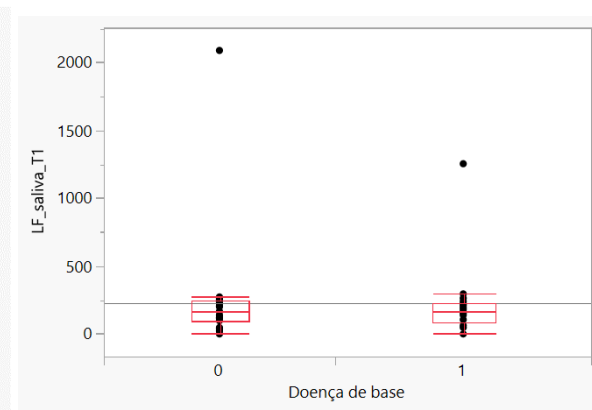
*Teste Mann-Whitney (p=0,40)

Figura 94. LF Sangue x Doença de base



*Teste Mann-Whitney (p=0,0040)

Figura 95. LF Saliva x Doença de base



*Teste Mann-Whitney (p=0,85)

5.6. Avaliar os fatores de risco para o desenvolvimento de mucosite oral na amostra estudada

Foi realizada uma análise de regressão linear múltipla com o objetivo de investigar em que medida os fatores PSR, Índice de placa e CPOD impactam nos níveis de mucosite oral. Os resultados demonstraram **não** haver uma influência significativa ($F = 0,93$; $p = 0,44$; $R^2 = 0,082$), ou seja, os índices de saúde bucal não foram fatores de risco para o desenvolvimento de mucosite oral na amostra estudada, mas vale a pena ressaltar que todos os pacientes deste estudo foram submetidos ao protocolo de adequação do meio bucal previamente ao início do condicionamento, como relatado anteriormente. O modelo explica

apenas 8% da variância da variável resposta mucosite. A **tabela 22** apresenta os coeficientes para todos os fatores preditivos.

Tabela 22. Análise linear múltipla

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	1,1039549	0,613536	1,80	0,0817
PSR	0,0826415	0,276057	0,30	0,7667
Índice de placa (Silness-Loe)	0,2412634	0,440762	0,55	0,5880
CPO-D	-0,037242	0,028698	-1,30	0,2040

6. DISCUSSÃO

Dentre os 40 pacientes incluídos no estudo, apenas 5 pacientes (20%) apresentaram mucosite oral grave (graus 2-3), sendo que a taxa de mucosite oral grau 0 foi 52,5%. Contrastando com a incidência de mucosite oral relatada na literatura^{3,4,5} que apresenta incidência variando de 47 a 100%. Acreditamos que a alta incidência de pacientes sem mucosite oral se deve aos protocolos preventivos desenvolvidos no hospital em que foi realizado o trabalho, como orientações de higiene bucal e laserterapia diariamente, e crioterapia quando indicado, já que 52% dos pacientes que receberam condicionamento mieloablativo não apresentaram mucosite oral e 28% desses mesmos pacientes apresentaram mucosite oral leve (graus 1-2).

Além disso, acreditamos que esse baixo índice de mucosite oral também seja pelo fato do centro transplantador em que o trabalho foi desenvolvido ser referência em tratamento de hemoglobinopatias hereditárias, resultando em uma incidência alta de doenças benignas (47,5%) na amostra estudada, e por isso, a utilização de regimes de condicionamento de intensidade reduzida e não mieloablativos (37,5%).

A associação entre a condição de saúde bucal e o grau de mucosite oral vem sendo estudada, alguns autores têm sugerido que a redução da taxa de microrganismos na cavidade oral, previamente à terapia oncológica, pode reduzir a gravidade das lesões de mucosite oral²¹. Neste contexto, o controle de microbiota bucal é importante aliado na redução de risco de translocação bacteriana. Dessa forma, podemos observar que em relação aos índices de saúde bucal do presente estudo, apesar de 57,5% dos pacientes apresentarem higiene oral insatisfatória com índice de placa com média de 0,6 (\pm 0,54), apenas 2 pacientes apresentaram doença periodontal, ou seja, comprometimento dos tecidos periodontais mais profundos. Isso vai de acordo com a conduta de adequação do meio bucal dos pacientes da instituição previamente à internação para o transplante, por isso, acreditamos que não houve associação dos pacientes quando realizada a correlação estatística entre a condição de saúde bucal e a expressão de citocinas.

Em relação à correlação da expressão de citocinas com o Exame Periodontal Simplificado (PSR), foi encontrada uma correlação negativa do IL-1 β ($\rho=-0.372$; $p=0,027$) em sangue, ou seja, os pacientes que apresentaram mais dessa citocina no sangue, possuíam menor PSR, indo de contramão à literatura ^{44,45}. Em 2003, Nicolau, GV e colaboradores publicou um trabalho avaliando a dosagem de interleucina 1beta em fluido crevicular gengival na doença periodontal e como resultado os pacientes com doenças periodontais apresentaram altas dosagens dessa interleucina ⁴⁴.

O CPOD encontrado no estudo é concordante com o apresentado pela população brasileira na média de idade de 36,7 anos. Os resultados preliminares do último Levantamento Nacional de Saúde Bucal (SB Brasil) realizado no ano de 2022 mostrou um CPOD médio de 11,2 para esta faixa etária. Em concordância com essa informação, os pacientes do presente estudo apresentaram CPOD médio de 12.82, sendo que 6 deles eram desdentados totais (CPOD = 28), em uso de prótese total superior e inferior, e 2 desses pacientes nunca tiveram tido nenhuma história prévia com a doença cárie (CPOD = 0).

A saliva é amplamente utilizada como amostra de pacientes para análise e compreensão de diversas patologias, monitoramento e também para medicina preventiva. E, quando comparada com o uso de sangue, células ou tecidos para avaliação, ela tem por vantagem ser de fácil coleta e pouco invasiva. Além disso, com ela é possível realizar melhores análises do que comparada a coleta em fluido crevicular gengival, como podemos observar no estudo de Legert e colaboradores de 2014⁴⁰.

A análise estatística evidenciou que as amostras de plasma mostraram expressão significativamente maior de TNF- α ($p=0.03$) em T0, quando comparada com T1. Enquanto, na lactoferrina ($p<0.001$) aconteceu o inverso, sua expressão diminuiu significativamente quando comparados T0 com T1. Dentre as amostras de saliva, a quantificação de TNF ($p=0.004$) e IL-6 ($p<0.001$) foi significativamente maior em T1 quando comparado com T0.

Em T1, a expressão de citocinas IL-8 ($p<0.001$), IL-6 ($p=0.01$) e lactoferrina ($p<0.001$) foi significativamente maior em saliva quando comparada com sangue no mesmo tempo, além disso, a expressão de TNF- α se manteve maior em saliva quando comparada com sangue em T1, apesar de não apresentar significância estatística ($p =0.22$).

Foram avaliadas também, as citocinas em sangue e saliva para correlacionar com a gravidade da mucosite oral, o sangue apresentou correlação forte da expressão de TNF- α

($\rho=0.403$; $p=0,009$) em T0; e correlação moderada de TNF- α ($\rho=0.33$, $p=0.037$) e IL-6 ($\rho=0.36$, $p=0.02$) em T1. Enquanto em saliva de T1, houve uma correlação moderada de IL-8 ($\rho=0.33$, $p=0.03$); uma correlação forte com TNF- α ($\rho=0.52$, $p=0.0005$) e IL-6 ($\rho=0.62$, $p<0.0001$); além de uma correlação negligível da lactoferrina ($\rho=-0.38$, $p=0.01$) com a gravidade de mucosite. Por isso, podemos observar que em nossa amostra, que os pacientes com TNF- α altos em sangue em T0 são pacientes com alto risco de mucosite. E que apesar do TNF- α e a IL-6 terem um papel importante em sangue, o seu papel local em saliva é muito importante para o desenvolvimento de mucosite oral, juntamente com a IL-8.

Em um estudo piloto no ano de 2022, Kiomy e colaboradores, avaliaram 18 pacientes oncológicos (12 com leucemia e 6 com carcinoma de cabeça e pescoço) em relação ao grau de mucosite oral, ressecamento de mucosa oral e mediadores inflamatórios em saliva através de coleta com swab em pontos chave da boca. As coletas foram realizadas em quatro tempos, sendo eles 14 dias após o início do tratamento, até 3 dias após início da MO, quando melhora ou piora da MO e até 7 dias após a conclusão da quimioterapia; diferente do presente estudo em que realizamos a coleta antes do início do condicionamento e no pior grau de mucosite. Seus resultados demonstraram que houve um aumento significativo de IL-6, IL-10 e TNF quando comparado antes e após início de mucosite oral, sendo que o TNF aumentou gradativamente de acordo com o aumento do grau de MO e também foram observadas correlações positivas significativas entre o grau de MO e os níveis salivares de IL-6, IL-10 e TNF³⁸.

Em relação à lactoferrina, é descrita na literatura em altas concentrações em secreção de saliva e leite humano, possuindo um papel importante na ativação do sistema imune e também apresentando um papel imunomodulador^{46,47,48}, sendo que a elevadas dosagens de lactoferrina salivar vem sendo demonstrada na literatura em pacientes com diagnóstico de Síndrome de Sjögren⁴⁹ e também em pacientes submetidos ao TCTH⁵⁰. Os nossos resultados demonstraram que a expressão de lactoferrina diminuiu significativamente quando comparados T0 e T1, sendo que nos pacientes com mucosite oral, ela apresentou correlação negligível, ou seja, os pacientes que apresentaram maior dosagens de lactoferrina, tiveram menores grau de mucosite oral, o que nos faz pensar nela sendo um fator protetivo para mucosite oral.

Além disso, também foram avaliadas as citocinas em sangue e saliva para correlacionar com a gravidade da dor (escala de VAS) em T1. Os nossos resultados

mostraram que no sangue houve uma forte correlação de TNF- α ($\rho=0.501$; $p=0,001$) e moderada correlação de IL-6 ($\rho=0.391$; $p=0,012$) em T0 com a dor em T1. Enquanto em T1, houve uma forte correlação de IL-6 ($\rho=0.409$; $p=0,008$) com a dor em T1. Já em saliva, não houve correlação das citocinas em T0 com a dor em T1, porém com aumento dessas citocinas em T1 e apresentando uma correlação forte de IL-8 ($\rho=0.456$; $p=0,003$), TNF- α ($\rho=0.401$; $p=0,010$) e IL-6 ($\rho=0.523$; $p=0,0005$), demonstrando um papel importante das citocinas estudadas no evento local da dor e mucosite oral. Em contrapartida, a lactoferrina ($\rho=-0.317$; $p=0,045$) apresentou novamente uma correlação negligível em saliva no T1, nos mostrando, mais uma vez, um possível efeito protetivo dessa proteína atuando na mucosite oral dos pacientes de TCTH.

Em relação aos fatores de risco para mucosite oral, os nossos resultados estão condizentes com a literatura já que demonstraram não haver uma influência significativa ($F = 0,93$; $p = 0,44$; $R^2 = 0,082$), ou seja, os índices de saúde bucal não foram fatores de risco para o desenvolvimento de mucosite oral na amostra estudada, mas vale a pena ressaltar que todos os pacientes deste estudo foram submetidos ao protocolo de adequação do meio bucal previamente ao início do condicionamento, como relatado anteriormente.

As condições multifatoriais do paciente transplantado que podem influenciar na expressão de citocinas, o limitado número de pacientes e a necessidade de seguimento longitudinal da expressão de citocinas no cenário do transplante são limitações deste estudo, que podem ser minimizadas com a realização de estudos multicêntricos e coletas seriadas de sangue e saliva.

7. CONCLUSÃO

Nosso estudo é um estudo inédito que avaliou a expressão das citocinas pró-inflamatórias em amostras de sangue e saliva dos pacientes submetidos ao primeiro alo-TCTH em diferentes tempo (antes do condicionamento e no pior grau de mucosite). Com base nos nossos resultados encontrados podemos concluir que:

- A expressão de TNF- α em sangue no pré transplante foi maior do que no pior grau de mucosite. Porém nas amostras de saliva, a quantificação de TNF- α e IL-6 foi significativamente maior no pior grau de mucosite quando comparado com pré transplante.
- Quando comparadas a expressão de citocinas em sangue e saliva no pré transplante, a expressão das citocinas IL-8 e lactoferrina foi significativamente maior em saliva de T0 quando comparada com sangue no mesmo tempo. Enquanto a expressão de IL-1 β , TNF- α , IL-6 e proteínas totais foi significativamente maior em sangue de T0 quando comparada com saliva no mesmo tempo.
- Já quando comparadas a expressão de citocinas em sangue e saliva no pior grau de mucosite, a expressão de citocinas IL-8, IL-6 e lactoferrina foi significativamente maior em saliva quando comparada com sangue no mesmo tempo; enquanto a expressão de IL-1 β e proteínas totais foi significativamente maior em sangue de T1 quando comparado com saliva no mesmo tempo. Porém, a expressão de TNF- α se manteve maior em saliva quando comparada com sangue em T1, apesar de não apresentar significância estatística
- Quando correlacionadas as citocinas em sangue e saliva com a gravidade da mucosite oral, o sangue apresentou correlação forte da expressão de TNF- α em T0, e correlação moderada de TNF- α e IL-6 em T1. Enquanto em saliva, em T1, houve uma correlação moderada de IL-8; uma correlação forte com TNF- α e IL-6; além de uma correlação negligível da lactoferrina.
- Quando correlacionadas as citocinas em sangue e saliva com a escala de dor (VAS), em sangue houve uma forte correlação de TNF- α e moderada correlação de IL-6 em T0. Enquanto em T1, houve uma forte correlação de IL-6 com a dor em T1. Já em saliva, houve um aumento dessas citocinas em T1 e apresentando uma correlação forte de IL-8, TNF- α e IL-6. Em contrapartida, a lactoferrina ($\rho=-0.317$; $p=0,045$) apresentou correlação negligível em saliva no T1.

- Os índices de saúde bucal não foram fatores de risco para o desenvolvimento de mucosite oral na amostra estudada.

Além disso, podemos concluir que a saliva é um método seguro e eficaz para a quantificação de citocinas inflamatórias, tendo por vantagem sobre a quantificação dessas citocinas em plasma que ela não é um método invasivo, possui alta reprodutividade, podendo ser usada para monitoramento prognóstico e terapêutico da mucosite oral.

8. BIBLIOGRAFIA

1. SINGH, N.; LOREN, A. W. Overview of Hematopoietic Cell Transplantation for the Treatment of Hematologic Malignancies. **Clin Chest Med.**, v. 38, 575-593, 2017.
2. SHAMRIZ, O.; CHANDRAKASAN, S. Update on Advances in Hematopoietic Cell Transplantation for Primary Immunodeficiency Disorders. **Immunol. Allergy Clin. N. Am.**, v. 39, 113-128, 2019.
3. SONIS, S. T. The pathobiology of mucositis. **Nature Reviews. Cancer**, v. 4, n. 4, p. 277–284, abr. 2004.
4. SCULLY, C.; SONIS, S.; DIZ, P. D. Oral mucositis. **Oral Diseases**, v. 12, n. 3, p. 229–241, maio 2006.
5. CHAUDHRY, H. M., et al. The incidence and severity of oral mucositis among Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Patients: A systematic review. **Biol Blood Marrow Transplant**, v. 22, 605-616, julho 2016.
6. SONIS, S. T. Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. **Oral Oncol.**, v. 12, 1015–20, dezembro 2009.
7. SONIS, S. T. The Biologic Role for Nuclear Factor-KappaB in Disease and its Potential Involvement in Mucosal Injury Associated with Anti-neoplastic Therapy. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**. 2002 Sep;13(5):380–9.
8. BAMBA, S.; ANDOH, A.; YASUI, H.; et al. Matrix metalloproteinase-3 secretion from human colonic subepithelial myofibroblasts: role of interleukin-17. **J Gastroenterol**. 2003 Jun;38(6):548–54.
9. SASAKI, M.; KASHIMA, M.; ITO, T.; et al. Differential regulation of metalloproteinase production, proliferation and chemotaxis of human lung fibroblasts by PDGF, Interleukin-1 β and TNF- α . **Mediators Inflamm**. 2000;9(3–4):155–60.
10. SONIS, S. T.; ELTING, L.S.; DOROTHY, K.; et al. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. **Cancer**. 2004;100:1995–2025.
11. RANNA, V.; CHENG, K. K. F.; CASTILLO, D. A.; et al. Development of the MASCC/ISOO clinical practice guidelines for mucositis: an overview of the methods. **Supportive Care in Cancer**. 2019; 27:3933-3948.
12. FERREIRA, P. et al., Treatment of mucositis in patients undergoing bone marrow transplantation: a systematic review. **Acta Paul Enferm**, 24(4):563-70, 2011.
13. LALLA, R. V. et al. MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. **Cancer**, v. 120, n. 10, p. 1453–1461, 15 maio 2014.

14. PETERSON, D. E. et al. Management of oral and gastrointestinal mucositis: ESMO Clinical Practice Guidelines. **Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology**, v. 22 Suppl 6, p. vi 78-84, set. 2011.
15. J CHARLES, H CHARLES A. Periodontal screening and recording. Vol. 22. 1994. 43 p.
16. FURUYA N. Periodontal screening and recording. **Hawaii dental journal** 1992; 23(11): 20-22.
17. World Health Organization. Oral Health Surveys: Basic Methods. **WHO**. 1997;92(4):66.
18. World Health Organization. WHO handbook for reporting results of cancer treatment. Vol. 48. Geneva, Switzerland; 1979.
19. IDAYU, M. N. R.; LEI, C. P.; WAN, I. W. Z.; et al. Oral Cryotherapy: Prevention of Oral Mucositis and Pain Among Patients With Colorectal Cancer Undergoing Chemotherapy. **Clin J Oncol Nurs**. 2018 Oct 1;22(5):555–60.
20. ROWINSKY, E. K.; CAZENAVE, L. A.; DONEHOWER, R. O. Taxol: A Novel Investigational Antimicrotubule Agent. **JNCI Journal of the National Cancer Institute. Journal of the National Cancer Institute**. 1990;82:1247–1259.
21. LUIZ, A. C.; EDUARDO, F. P.; BEZINELLI, L. M.; CORREA, L. Oral alterations and oral care in bone marrow transplantat patients. **Rev. Bras. Hematolol. Hemoter**. Vol. 30. no 6. Dec. 2008.
22. OCANSEY DKW, PEI B, YAN Y, QIAN H, ZHANG X, XU W, et al. Improved therapeutics of modified mesenchymal stem cells: an update. **J Transl Med** 2020;18:42.
23. PUCELLA JN, UPADHAYA S, REIZIS B. The Source and Dynamics of Adult Hematopoiesis: Insights from Lineage Tracing. **Annu Rev Cell Dev Biol** 2020;36:529–50.
24. EAVES CJ. Hematopoietic stem cells: concepts, definitions, and the new reality. **Blood** 2015;125:2605–13.
25. KANATE AS, MAJHAIL NS, SAVANI BN, BREDESON C, CHAMPLIN RE, CRAWFORD S, et al. Indications for Hematopoietic Cell Transplantation and Immune Effector Cell Therapy: **Guidelines from the American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Biology of Blood and Marrow Transplantation** 2020;26:1247–56.
26. PASSWEG JR, BALDOMERO H, BADER P, BONINI C, DUARTE RF, DUFOUR C, et al. Use of haploidentical stem cell transplantation continues to increase: the 2015 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. **Bone Marrow Transplant** 2017;52:811–7
27. DUONG HK, SAVANI BN, COPELAN E, DEVINE S, COSTA LJ, WINGARD JR, et al. Peripheral Blood Progenitor Cell Mobilization for Autologous and Allogeneic Hematopoietic

Cell Transplantation: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation** 2014;20:1262–73.

28. SCOTT BL, PASQUINI MC, LOGAN B, WU J, DEVINE S, PORTER DL, et al. Results of a Phase III Randomized, Multi-Center Study of Allogeneic Stem Cell Transplantation after High Versus Reduced Intensity Conditioning in Patients with Myelodysplastic Syndrome (MDS) or Acute Myeloid Leukemia (AML): Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN) 0901. **Blood** 2015;126:LBA-8-LBA-8.

29. WONG JYC, FILIPPI AR, DABAJA BS, YAHALOM J, SPECHT L. Total Body Irradiation: Guidelines from the International Lymphoma Radiation Oncology Group (ILROG). **International Journal of Radiation Oncology Biology Physics** 2018;101:521–9.

30. GIRALT S, BALLEEN K, RIZZO D, BACIGALUPO A, HOROWITZ M, PASQUINI M, et al. Reduced-Intensity Conditioning Regimen Workshop: Defining the Dose Spectrum. Report of a Workshop Convened by the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. **Biology of Blood and Marrow Transplantation** 2009;15:367–9.

31. GYURKOCZA B, SANDMAIER BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all. **Blood** 2014;124:344–53.

32. MURTHY HS, GHARAIBEH RZ, AL-MANSOUR Z, KOZLOV A, TRIKHA G, NEWSOME RC, et al. Baseline Gut Microbiota Composition Is Associated with Major Infections Early after Hematopoietic Cell Transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant** 2020;26:2001–10.

33. HOYT R, RITCHIE DS, WIRTH A, SZER J, GRIGG AP. Etoposide induces more severe mucositis than CY when added to TBI as conditioning in allograft recipients receiving CsA and MTX. **Bone Marrow Transplant** 2010;45:1457–62.

34. KRÖGER N, SAYER HG, SCHWERDTFEGER R, KIEHL M, NAGLER A, RENGES H, et al. Unrelated stem cell transplantation in multiple myeloma after a reduced-intensity conditioning with pretransplantation antithymocyte globulin is highly effective with low transplantation-related mortality. **Blood** 2002;100:3919–24.

35. MORI T, YAMAZAKI R, AISA Y, NAKAZATO T, KUDO M, YASHIMA T, et al. Brief oral cryotherapy for the prevention of high-dose melphalan-induced stomatitis in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. **Support Care Cancer** 2006;14:392–5.

36. HARADA, A., SEKIDO, N., AKAHOSHI, T., WADA, T., MUKAIDA, N., AND MATSUSHIMA, K. (1994) Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. **J. Leukoc. Biol.** 56, 559–564.

37. KLAFKE, K., **Determinação do papel das citocinas inflamatórias IL-6 e IL-8 na proliferação, resistência quimioterápica e invasão celular em glioblastoma humano.** Trabalho de conclusão de curso - UFRGS, Porto Alegre, 60 pags. 2015.

38. KIYOMI, A, YOSHIDA, K, ARAI, C, et al. Salivary inflammatory mediators as

biomarkers for oral mucositis and oral mucosal dryness in cancer patients: A pilot study. **PLoS One**. 2022; 17(4): e0267092.

39. XU, J, YANG, G, AN, W, et al. Correlations between the severity of radiation-induced oral mucositis and salivary epidermal growth factor as well as inflammatory cytokines in patients with head and neck cancer. **Head Neck**. 2023 May;45(5):1122-1129.

40. LEGERT, KG, et al. The relationship between oral mucositis and levels of pro-inflammatory cytokines in serum and in gingival crevicular fluid in allogeneic stem cell recipients. **Support Care Cancer**. 2015 Jun;23(6):1749-57.

41. NORMANDO, AGC, ROCHA, CL, TOLEDO, IP, et al. Biomarkers in the assessment of oral mucositis in head and neck cancer patients: a systematic review and meta-analysis. **Support Care Cancer**. 2017 Sep;25(9):2969-2988.

42. ARDITO, F, GIULIANI, M, PERRONE, D, GIANNATEMPO, G, et al. Expression of salivary biomarkers in patients with oral mucositis: evaluation by SELDI-TOF/MS. **Oral Diseases** (2016) 22, 209–219.

43. BOSSI P, BERGAMINI C, MICELI R, COVA A, ORLANDI E, RESTEGHINI C, LOCATI L, ALFIERI S, IMBIMBO M, GRANATA R, MARIANI L, IACOVELLI NA, HUBER V, CAVALLO A, LICITRA L, RIVOLTINI L, Salivary cytokine levels and oral mucositis in head and neck cancer patients treated with chemoradiotherapy, **International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics** (2016), doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.08.047.

44. NICOLAU, GV, RAPOPORT, A, SELSKI, MAS, Concentration of interleukine 1b in periodontal disease, **Rev. Bras. Otorrinolaringol.**69(2), <https://doi.org/10.1590/S0034-72992003000200007>

45. Bandeca SCS, S. M. L. E. (2019). Nível de interleucina 1-beta em pacientes com síndrome metabólica e doença periodontal. *ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION*, 7. Recuperado de <https://www.archhealthinvestigation.com.br/ArcHI/article/view/4024>

46. Travis SM, Singh PK, Welsh MJ. Antimicrobial peptides and proteins in the innate defense of the airway surface. **Curr Opin Immunol** 2001;13:89–95. [https://doi.org/10.1016/s0952-7915\(00\)00187-4](https://doi.org/10.1016/s0952-7915(00)00187-4).

47. Kimber I, Cumberbatch M, Dearman RJ, Headon DR, Bhushan M, Griffiths CEM. Lactoferrin: influences on Langerhans cells, epidermal cytokines, and cutaneous inflammation. **Biochem Cell Biol Biochim Biol Cell** 2002;80:103–7. <https://doi.org/10.1139/o01-227>.

48. Ward PP, Uribe-Luna S, Conneely OM. Lactoferrin and host defense. **Biochem Cell Biol Biochim Biol Cell** 2002;80:95–102.

49. Ryu OH, Atkinson JC, Hoehn GT, Illei GG, Hart TC. Identification of parotid salivary biomarkers in Sjogren's syndrome by surface-enhanced laser desorption/ionization

time-of-flight mass spectrometry and two-dimensional difference gel electrophoresis. **Rheumatol Oxf Engl** 2006;45:1077–86.

50. Imanguli MM, Atkinson JC, Harvey KE, Hoehn GT, Ryu OH, Wu T, et al. Changes in salivary proteome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Exp Hematol** 2007;35:184–92.

Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Avaliação da relação entre mucosite oral e a expressão de citocinas inflamatórias séricas e salivares em pacientes submetidos ao Transplante Alogênico de Células Tronco Hematopoiéticas

Número do CAAE:

Você está sendo convidado a participar como voluntário de uma pesquisa. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, visa assegurar seus direitos como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar este Termo para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo se você não aceitar participar ou retirar sua autorização em qualquer momento.

Justificativa, hipótese e objetivos:

A quimioterapia feita no início do transplante de células tronco hematopoiéticas pode trazer vários efeitos colaterais, entre eles os mais comuns são a inflamação do tecido que recobre a boca (mucosite), alteração do volume e composição da saliva e redução da resistência. Esses fatores associados aumentam o risco de desenvolvimento de infecção e inflamação dos tecidos que ficam envolta dos dentes (periodontite).

Além disso, a presença de inflamação trazida pelas infecções locais (da boca) ou sistêmicas (do sangue) aumenta o risco de desenvolvimento da doença do enxerto contra hospedeiro, ou seja, uma reação de rejeição das células da nova medula contra o organismo do paciente transplantado, ela pode acontecer em um ou mais órgãos e ter gravidades diferentes, seu tratamento é feito com o uso de medicamentos para reduzir a resistência do organismo (imunossupressores).

Além disso, o desenvolvimento da mucosite oral é complexo e não está completamente estabelecido, porém, sabe-se que está relacionado diminuição de qualidade de vida durante o tratamento, sendo diretamente relaciona a proteínas inflamatórias. Desta

forma, o objetivo deste trabalho é avaliar a correlação entre a expressão das proteínas inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-1 β) em saliva e plasma (sangue) com a gravidade de mucosite oral dos pacientes submetidos ao transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas.

A hipótese deste trabalho é de que o evento inflamatório na mucosite oral é primordialmente local e não sistêmico. Desta forma, esperamos que o aumento de expressão de citocinas inflamatórias em cavidade oral (saliva) seja mais significativo do que o encontrado em plasma (sangue). Além disso, acreditamos que haverá correlação entre os níveis de citocinas em saliva e a gravidade de mucosite oral.

Rúbrica do pesquisador: _____ Rúbrica do participante ou responsável : _____

Procedimentos:

Este estudo será realizado em no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto e incluirá pacientes adultos e crianças a partir de 12 anos, a serem submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas. Os voluntários de ambos os grupos serão convidados a participar do trabalho ao internarem na Unidade de Transplante de Células Tronco do hospital citado anteriormente, antes do início da quimioterapia que precede o transplante.

Nesta primeira avaliação os focos de infecções de origem dentária (como a cárie) ou periodontal (gengival) serão diagnosticados e tratados antes da quimioterapia.

Amostras de saliva e sangue serão colhidas nos períodos antes do início do condicionamento imediato e no pior grau de mucosite oral. Para coletar amostras de saliva, o voluntário será convidado a cuspir, por 15 minutos, toda saliva da sua boca em um tubo de graduado. A coleta de sangue será realizada pela equipe de enfermagem da Unidade de Transplante de Medula Óssea do hospital.

Desconfortos e riscos:

Você não deve participar deste estudo se:

- Não quiser participar do mesmo ou não assinar esse termo de consentimento livre e esclarecido.

Os desconfortos que você pode experimentar durante o estudo podem ser:

1- Dor e Manchas Roxas na área de coleta de sangue: apesar de ser um procedimento rotineiro, as punções venosas para coleta de sangue periférico podem causar desconforto no local da punção (picada). Esse procedimento é feito de acordo com os princípios de segurança relacionado ao procedimento. Você será orientado pela equipe de Enfermagem quantos aos cuidados locais após as punções venosas.

2- Cansaço durante o exame clínico: o exame clínico é realizado de forma rápida e sistemática, minimizando o esforço do paciente, porém deve ser realizado com a boca do paciente aberta, podendo causar cansaço ou desconforto.

3- Ressecamento bucal durante a coleta de saliva: como vai ser solicitado que cuspa sua saliva em um pote, pode ser que após a coleta sua boca fique mais seca. Iremos oferecer água se sentir seca.

4- Incomodo e discreto sangramento da gengiva: durante o exame da gengiva pequenos sangramentos podem ocorrer em áreas inflamadas, todos os cuidados serão tomados caso algum episódio de sangramento ocorra.

5- Exposição da sua identificação (quebra de sigilo): todos os cuidados serão tomados para que apenas os responsáveis pela pesquisa tenham contato com os seus dados de identificação. No entanto, mesmo que muito pouco provável, pode haver exposição acidental do seu nome e outras pessoas ficarem sabendo que participou do trabalho.

Benefícios:

Todos receberão atenção odontológica antes da quimioterapia com intuito de tratar as condições infecciosas já existentes, orientar quanto a higiene oral e reduzir o risco de complicações durante a quimioterapia. Além disso, todos os voluntários serão avaliados constantemente até o término do período do estudo e se for identificada patologias ou complicações de saúde bucal receberão o atendimento e orientação.

Rúbrica do pesquisador: _____ Rúbrica do participante ou responsável : _____

Acompanhamento e assistência:

Os voluntários participantes deste estudo serão acompanhados durante todo período do estudo pelo cirurgião-dentista e médico responsáveis pelo projeto em seu hospital. Para o HC de Ribeirão Preto: 1.Cirurgiã-dentista Vanessa Tonetto Marques Galves; ligue a cobrar 904116-974491033 ou se preferir ligue (16) 36022352 (horário comercial). 2.Cirurgião dentista: Dr. Leandro Dorigan de Macedo; ligue a cobrar discando 904116-991481137, ou se preferir ligue (16) 36022352 (horário comercial).

Fica assegurado ao voluntário desta pesquisa, que em caso da comprovação de danos causado pelo procedimento, o mesmo receberá assistência médica e odontológica imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário pela equipe de Cirurgiões Dentistas e Médicos envolvidos neste estudo.

Sigilo e privacidade:

Com a sua concordância em participar deste estudo, você terá a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado, para a análise de dados sua identificação será feita através de um número, apenas os responsáveis pelo trabalho de seu hospital saberão qual número se refere a você.

Ressarcimento e Indenização:

Os procedimentos e avaliações a serem realizados neste estudo serão feitos durante a internação para transplante de células tronco hematopoiéticas, sem acarretar despesas extras para o paciente. Não haverá ressarcimento de despesas, como transporte, alimentação, etc.

Entretanto, fica assegurado o direito do voluntário participante da pesquisa de interromper sua participação no estudo, sem quaisquer prejuízos ao seu tratamento odontológico ou médico.

Armazenamento de MATERIAL BIOLÓGICO:

A coleta de sua saliva e sangue servirá para avaliar a presença de citocinas inflamatórias e será armazenada em um biorrepositório (local onde se armazena material biológico) localizado no Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro de Ribeirão Preto, sob responsabilidade da supervisora e responsável pelo laboratório Dra. Simone Kashima Haddad (telefone de contato: 2101-9300 – ramal: 9696).

Toda nova pesquisa a ser realizada com as amostras armazenadas de sua saliva e sangue será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). A cada nova pesquisa, o voluntário será consultado e receberá um novo TCLE para permissão do uso das amostras de saliva armazenadas.

Você, ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, pode retirar o consentimento da guarda e utilização do seu material biológico (saliva e sangue) armazenado. O descarte do material armazenado será autorizado quando ou se

houver modificação ou alteração das condições do biorrepositório onde a saliva estiver armazenada.

Rúbrica do pesquisador: _____ Rúbrica do participante ou responsável : _____

Em caso de falecimento ou condição incapacitante, os direitos sobre o material armazenado deverão ser dados a: _____

Contato:

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com os pesquisadores da sua Instituição:

Dra. Vanessa Tonetto Marques Galves

Endereço: Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto: Avenida Bandeirantes, 3.900 – Vila Monte Alegre, Campus da USP, Ribeirão Preto _SP. Telefones: (16) 974491033 (ligue a cobrar discando 904116-974491033; (16) 36022352. Ou pelo email: vanessa.tonetto.marques@usp.br.

Dr. Leandro Dorigan de Macedo

Endereço: Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto: Avenida Bandeirantes, 3.900 – Vila Monte Alegre, Campus da USP, Ribeirão Preto _SP. Telefones: (16) 991481137 (ligue a cobrar discando 904116-991481137); (16) 36022352. Ou pelo email: dorigan@hcrp.usp.br.

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação e sobre questões éticas do estudo, você poderá entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Campus Ribeirão Preto – HCFMRP das 08:00hs às 17:00hs na Avenida Bandeirantes, 3.900 – Vila Monte Alegre, Campus da USP, Ribeirão Preto-SP; CEP: 14049900; telefone (16) 3602-2228; e-mail: cep@hcrp.usp.br

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP):

O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) tem por objetivo desenvolver a regulamentação sobre proteção dos seres humanos envolvidos nas

pesquisas. Desempenha um papel coordenador da rede de Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) das instituições, além de assumir a função de órgão consultor na área de ética em pesquisas.

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter recebido esclarecimentos sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar:

PARTICIPAÇÃO DO ESTUDO

- () CONCORDO em participar do presente estudo.
- () NÃO CONCORDO em participar do presente estudo.

ARMAZENAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO (SANGUE E SALIVA)

- () AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.
- () NÃO AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico.

Rúbrica do pesquisador: _____ Rúbrica do participante ou responsável : _____

Nome do (a) participante: _____

Contato telefônico: _____

E-mail (opcional): _____

Nome do (a) responsável legal do participante (se aplicável): _____

Contato telefônico do responsável legal (se aplicável): _____

E-mail do responsável legal (opcional): _____

_____ Data: ____/____/____.

(Assinatura do PARTICIPANTE ou RESPONSÁVEL LEGAL)

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

_____ Data: ____/____/____.

(Assinatura do pesquisador)

Rúbrica do pesquisador: _____ Rúbrica do participante ou responsável : _____

Apêndice B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Para pacientes com idade entre 12 a 17 anos e 11 meses e 29 dias de vida)

Avaliação da relação entre mucosite oral e a expressão de citocinas inflamatórias séricas e salivares em pacientes submetidos ao Transplante Alogênico de Células Tronco Hematopoiéticas

Número do CAAE:

Você está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) da pesquisa “Avaliação da relação entre mucosite oral e a expressão de citocinas inflamatórias séricas e salivares em pacientes submetidos ao Transplante Alogênico de Células Tronco Hematopoiéticas” que tem

por objetivo avaliar resposta do seu organismo ao tratamento de câncer através do sangue e saliva.

Este estudo será realizado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto e incluirá crianças a partir de 12 anos e adultos que farão o tratamento com transplante. A primeira vez que você será avaliado, iremos avaliar se você apresenta infecções em boca, como, por exemplo, cárie ou doenças na gengiva e tratar antes do início do tratamento com o médico. Além disso, na nossa primeira avaliação e quando aparecerem machucados em sua boca, vamos coletar saliva e sangue. Para a coleta da saliva, você precisará cuspir, por 15 minutos, toda saliva da sua boca em um tubo plástico. A coleta de sangue será realizada pela equipe de enfermagem da Unidade de Transplante de Medula Óssea do hospital.

Ao aceitar participar do estudo, todos receberão atendimento pelo dentista antes da quimioterapia para tratar as infecções já existentes, aprenderão como realizar a higiene oral de forma correta e reduzir o risco de complicações na boca durante o tratamento. Todos serão avaliados constantemente até terminar o período do estudo e, se for identificadas complicações em sua boca devido ao tratamento médico, receberão o atendimento e orientação necessários.

Porém, durante as avaliações, alguns desconfortos podem aparecer, como dor ou manchas roxas devido coleta de sangue, cansaço durante a avaliação com o dentista, ressecamento de boca durante a coleta da saliva, incômodo e discreto sangramento na gengiva durante o avaliação ou exposição da sua identidade, mas, todas as medidas serão tomadas para que reduzir ao máximo os riscos ou desconforto.

Só estamos te apresentando este termo porque seu responsável legal, já recebeu as orientações e aceitou a sua participação. No entanto, se você não concordar e preferir não participar respeitaremos sua vontade e continuaremos te dando toda a atenção necessária. Sempre que você apresentar dúvidas sobre o estudo, pode nos perguntar e estará livre para participar ou não.

O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento, sem qualquer prejuízo ao tratamento com dentista ou médico neste hospital.

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____.

Assinatura responsável

Assinatura do menor

Assinatura do pesquisador

Apêndice C - Ficha clínica

FICHA INICIAL IDENTIFICAÇÃO

PACIENTE: _____ DATA: _____

REGISTRO: _____ PESO: _____ NASCIMENTO:

CONDICIONAMENTO:

DOENÇA DE BASE: _____ DATA DA INFUSÃO DE
MEDULA: _____

TIPO DO TRANSPLANTE:

() ALOGENICO APARENTADO
IDENTICO

() ALOGENICO NÃO APARENTADO
MISMACH

() ALOGENICO APARENTADO
MISMACH

() HAPLO-IDENTICO : Anotar
match: _____

() ALOGENICO NÃO APARENTADO
IDENTICO

FONTE DE CÉLULA: () MEDULA () SANGUE PERIFÉRICO
ÓSSEA

PROFILAXIA PARA
DECH: _____

COMORBIDADES

COMORBIDADE	COMORBIDADE

MEDICAMENTOS EM USO (POSOLOGIA):

MEDICAMENTO	VIA DE ADMINSTRAÇÃO	DOSE

FICHA DE COLETA EM DIFERENTES TEMPOS (IMPRIMIR UMA PARA CADA TEMPO)

PACIENTE: _____ DATA: _____

1. TEMPO DO TRANSPLANTE:

() ANTES DO PREPARO ODONTOLÓGICO

() PRÉ-CONDICIONAMENTO IMEDIATO

() PIOR GRAU DE MUCOSITE

2. TRATANDO INFECÇÃO? () SIM () NÃO

SE SIM:

QUAL _____

() NÃO IDENTIFICADA

3. FEBRE NAS ÚLTIMAS 48 HORAS: () SIM () NÃO

4. HEMOCULTURA OU PCR SANGUE POSITIVA NAS ÚLTIMAS 48 HS: () SIM () NÃO

SE SIM: QUAL MICROORGANISMO OU PCR:

(SE BACTÉRIA OU FUNGO COLOCAR O NOME DIRETO, SE PCR COLOCAR PCR E O VÍRUS)

5.MEDICAMENTOS EM USO

MEDICAMENTO	VIA DE ADMINSTRAÇÃO	DOSE e numero de vezes ao dia (ex.50mg; 3x/dia)	DATA DE INICIO

***via de administração: VO: via oral; IV: intra-venoso; TP: tópico pele; TO: tópico oral**

6.ÍNDICE - PSR:

O índice PSR envolve 3 etapas:

1. Exame em pelo menos 6 sítios em cada dente
2. Caminhar com a sonda pelo sulco gengival
3. Quando houver apenas 1 dente este será o representante do sextante
4. Registrar o pior código em cada sextante

⇒ vá para o próximo sextante quando registrar código 4

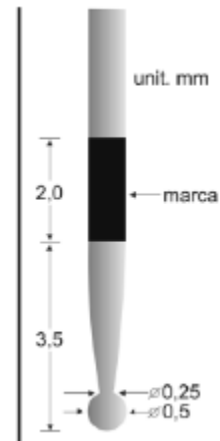
⇒ adicione o símbolo * quando achar anormalidades clínicas (mobilidade, recessões gengivais \geq a 3,5mm, envolvimento de bifurcações, problemas mucogengivais)

⇒ códigos 0, 1 e 2: tratamento por clínico geral

⇒ códigos 3 e 4 : tratamento por periodontista

Quadro 1 – Critérios para definição de escores do PSR

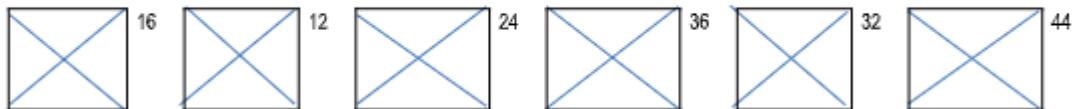
Escore	Critérios PSR
0	Nenhum sinal de doença periodontal - Faixa colorida totalmente visível
1	Sangramento gengival até 30s após a sondagem suave - faixa colorida totalmente visível
2	Cálculo supra e/ou subgengival e/ou margens restauradoras mal adaptadas - faixa colorida totalmente visível
3	Bolsa periodontal que permite a introdução da sonda no sulco (bolsa de 4 a 5 mm) – faixa colorida da sonda parcialmente visível
4	Bolsa periodontal que permite maior introdução da sonda no sulco (bolsa profunda de 6 mm ou mais) - faixa colorida não visível
*	Anormalidade clínica associada aos demais escores - comprometimento de furca, mobilidade, alterações mucogengivais e/ou recessão gengival na área colorida da sonda (maior que 3,5 mm a partir da junção ameloceamentária).



7.ÍNDICE DE PLACA:

IP 0 – sem placa; 1 – placa VISÍVEL

*Na ausência do dente índice avaliar o adjacente do mesmo grupo



8.CPO-D

C: _____ ; P: _____ ; O: _____ CPOD: _____

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

0- Hígido; C- Cariado; R- Restaurado sem cárie; A- Ausente

.Cariado: descalcificação com cavidade; restaurados com carie ou infiltração; raízes residuais

.Ausentes: dentes ausentes que foram extraídos

.Restaurador/obturados: material restaurador em boas condições

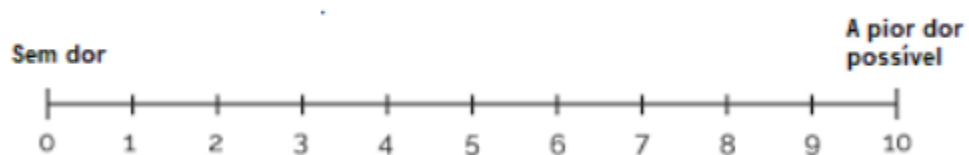
9. FLUXO SALIVAR NÃO ESTIMULADO (mL/min): _____

10. MUCOSITE:

Classificação	Parâmetro
0	Sem alteração
1	Presença de dor e eritema
2	Presença de Ulcera, capaz de comer alimentos sólidos
3	Presença de Ulcera, requer dieta líquida
4	Presença de Ulcera, alimentação via oral não possível

11. DOR EM CAVIDADE ORAL:

Figura 1 – Escala Analógica Visual



12. COLETA DE SANGUE E SALIVA

VOLUME DE SALIVA COLHIDA (PESO): _____ HORÁRIO DA
COLETA: _____

CONSEGUIU RESPEITAR O JEJUM: () SIM () NÃO

QUAL ACESSO PARA COLETA DO SANGUE? () CATÉTER () PERIFÉRICO

13. OBSERVAÇÕES (colocar informações que julgar importante relativa a coleta e manuseio do material):



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA PROTEÍNAS E CITOCINAS RELACIONADAS À INFLAMAÇÃO EM PACIENTES TRATADOS COM TERAPIA CELULAR

Pesquisador: THIAGO DE CARVALHO REIS

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 56741322.4.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.384.454

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo longitudinal prospectivo que incluirá 100 pacientes submetidos ao transplante alogênico de medula óssea e aos submetidos a terapia com Car T-cell em um Hospital Universitário. Os participantes da pesquisa serão acompanhados longitudinalmente e terão sangue periférico e saliva coletados nos seguintes tempos: 1-Alo-TCTH: imediatamente antes do condicionamento (T0), no pior grau de mucosite oral antes da enxertia neutrofílica (T1), no diagnóstico da DECH aguda (T2), no diagnóstico de DECH crônica (T3) e com um ano pós o transplante (T4).; 2- Car T-cell: no pré condicionamento (T1); imediatamente antes da infusão (T2); se febre nas primeiras 24 hs após infusão (T3); no D+1 pós infusão (T4); D+3 (T5); D+7 (T6); D+10 (T7); D+14 (T8) ; D+21 (T9); D+28 (T10). Nos mesmos tempos, com exceção do T3 para Car T-Cell, serão coletados também os índices de saúde bucal, score de dor medido pela Escala Visual Analógica (EVA) e medida de fluxo salivar não estimulado. Para o pior grau de mucosite oral, será considerado a avaliação diária destas lesões e a expectativa do dia de pior grau de mucosite em função do protocolo e condicionamento realizado. A avaliação clínica sempre irá sobrepor a expectativa teórica do dia de pior grau de mucosite oral. Com isso, em casos de o paciente não apresentar lesões de mucosite oral clinicamente detectáveis, em teoria, o suposto o pior de grau de mucosite será estimado e os dados serão coletados para todas as variáveis. Os cuidados odontológicos para os pacientes seguirão o protocolo padrão definido na

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP -



Continuação do Parecer: 5.384.454

instituição.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o perfil proteômico e de citocinas inflamatórias em sangue e saliva no pré tratamento com terapia celular (alo-TCTH e Car T-Cell) e no desenvolvimento de complicações inflamatórias. No alo-TCTH: mucosite oral, DECHa e DECHc; no Car T-Cell: no período de resposta inflamatória aguda.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Presentes no Corpo do Projeto e TCLE

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos devidamente apresentados. As inadequações foram corrigidas

Recomendações:

não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa, assim como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Versão 2 – 21/04/2022, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_18817111.pdf	21/04/2022 15:56:28		Aceito
Outros	Lista_adequacoes.pdf	21/04/2022 15:55:04	THIAGO DE CARVALHO REIS	Aceito

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 5.384.454

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_assentimento.pdf	21/04/2022 15:52:45	THIAGO DE CARVALHO REIS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_consentimento.pdf	21/04/2022 15:52:34	THIAGO DE CARVALHO REIS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	14/03/2022 18:53:34	THIAGO DE CARVALHO REIS	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	biorepositorio_termo.pdf	10/02/2022 11:30:58	THIAGO DE CARVALHO REIS	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	25/01/2022 14:28:54	THIAGO DE CARVALHO REIS	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	06/01/2022 17:11:20	THIAGO DE CARVALHO REIS	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	06/01/2022 17:08:38	THIAGO DE CARVALHO REIS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 03 de Maio de 2022

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador(a))

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br