



PHILLIPE NOGUEIRA BARBOSA ALENCAR

**“EFEITO DA HOMEOPATIA NA FUNÇÃO
SALIVAR E NA MORFOLOGIA DE
GLÂNDULAS PARÓTIDAS DE RATOS
IRRADIADOS”**

PIRACICABA

2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

PHILLIPE NOGUEIRA BARBOSA ALENCAR

**“EFEITO DA HOMEOPATIA NA FUNÇÃO SALIVAR
E NA MORFOLOGIA DE GLÂNDULAS PARÓTIDAS
DE RATOS IRRADIADOS”**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
APRESENTADA À FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA
UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO
DE MESTRE EM RADIOLOGIA
ODONTOLÓGICA, NA ÁREA DE
RADIOLOGIA ODONTOLÓGICA**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO PHILLIPE NOGUEIRA BARBOSA ALENCAR,
E ORIENTADO PELO PROF. DR. FRANCISCO CARLOS GROPPPO**

Francisco Carlos Groppo

PIRACICABA

2013

iii

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
JOSIDELMA F COSTA DE SOUZA – CRB8/5894 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

AL25e

Alencar, Phillipe Nogueira Barbosa, 1984-
Efeito da homeopatia na função salivar e na morfologia de
glândulas parótidas de ratos irradiados / Phillipe Nogueira
Barbosa Alencar. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Francisco Carlos Groppo
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Radioterapia. 2. Glândulas salivares. I. Groppo, Francisco
Carlos, 1966- II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: Effect of homeopathy in the function and morphology of
salivary parotid glands of irradiated rats

Palavras-chave em Inglês:

Radiotherapy

Salivary glands

Área de concentração: Radiologia Odontológica

Titulação: Mestre em Radiologia Odontológica

Banca examinadora:

Francisco Carlos Groppo [Orientador]

Lúcio Mitsuo Kurita

Solange Maria de Almeida

Data da defesa: 27-02-2013

Programa de Pós-Graduação: Radiologia Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 27 de Fevereiro de 2013, considerou o candidato PHILLIPE NOGUEIRA BARBOSA ALENCAR aprovado.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "F. C. Groppo".

Prof. Dr. FRANCISCO CARLOS GROPPPO

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Lúcio Mitsuo Kurita".

Prof. Dr. LÚCIO MITSUO KURITA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Solange Maria de Almeida".

Profa. Dra. SOLANGE MARIA DE ALMEIDA

Aos meus pais,

Por serem sempre tão presentes em minha vida, servindo-me de espelhos, incentivando meus objetivos profissionais e fazendo das minhas conquistas orgulhos próprios.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, o meu verdadeiro combustível, por todas as bênçãos derramadas sobre mim. Pela segunda chance de vida que me foi concedida. Obrigado também por se fazer tão próximo durante toda essa trajetória, tomando-me pela mão e me guiando pelo caminho certo.

À **Nossa Senhora do Perpétuo Socorro e à Nossa Senhora de Fátima**, pelo sempre poderoso intermédio junto a Deus e pela constante proteção em todos os momentos da minha vida.

Aos meus familiares,

À minha mãe, **Maria do Socorro Nogueira Barbosa Alencar**, essa mulher iluminada, cheia de força e de garra, possuidora de um amor incondicional dedicado a mim desde minha concepção. À mãe mais guerreira e coruja, o tesouro maior que Deus poderia ter me presenteado. O meu muito obrigado por me incentivar em todas as minhas escolhas e me proporcionar todas essas conquistas.

Ao meu pai, **José Airton Alencar**, o homem de maior coração, maior desprendimento e mais humano que já conheci. O amigo que divide minhas dores tornando-as menores e multiplica minhas conquistas fazendo-as maiores. Quero ter o prazer e a graça de repassar aos meus filhos, pelo menos um pouco, de tudo que me foi ensinado.

À minha irmã, **Polyanna Nogueira Barbosa Alencar**, a minha amiga fiel e amada, por se fazer sempre presente, mesmo com toda essa distância, mandando energias positivas e cuidando dos "velhos" durante minha ausência.

À minha namorada, companheira, parceira e cúmplice **Fernanda Araújo Sampaio**, o presente que Deus me mandou na hora certa, pra me guiar, me fazer feliz e construir uma vida juntos. Obrigado por compreender minha ausência, minhas falhas, minhas inseguranças e fraquezas. Agradeço por todas as palavras de ânimo e carinho nas horas certas, os conselhos amigos e o amor concedido. Amo você!

Aos meus avôs maternos, **Francisca Lecy Nogueira Barbosa e Pedro Barbosa Cordeiro** (*in memorium*), por terem constituído a família maravilhosa que tenho, pelas preces de proteção e pelo amor verdadeiro e constante em minha vida.

Aos meus avôs paternos, **Zenaide Farias Alencar** e **José Batista Alencar** (*in memorium*), por fazerem parte dessa trajetória e pelos bons momentos compartilhados.

À minha madrinha querida, **Tereza Velma Barbosa**, por ser esse exemplo de ser humano e profissional. A minha "torcedora oficial", que me transmitiu sua fé inabalável e se fez presente nessa caminhada.

Ao meu tio do coração, **Fernando Henrique Carvalho**, o segundo pai que a vida me permitiu escolher e que se faz muito presente em minha vida, nas alegrias e tristezas.

À minha grande família, tios e primos, pelo amor eterno e por fazerem parte da construção do meu caráter.

Aos Professores,

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo**, pelos ensinamentos transmitidos, disponibilidade em ajudar, sugerindo e aconselhando durante essa jornada. Muito obrigado pela confiança em mim depositada e pela prazerosa convivência.

À querida, Profa. **Dra. Solange Maria de Almeida**, meu anjo da guarda de Piracicaba, essa pessoa de coração grandioso e terno. Muito obrigado por sempre estar disposta a me ajudar em meus trabalhos profissionais, mas muito mais que isso, disposta a me ver feliz.

Ao **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto**, pelos ensinamentos de profissão e de vida. Por sempre exigir o melhor que cada um pode oferecer. Obrigado pela oportunidade e confiança concedidas.

Aos **Prof. Dr. Frab Norberto Boscolo**, **Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes**, **Prof. Dr. Marcelo Rocha Marques** e **Prof.^a Dr.^a Deborah Queiroz de Freitas** pelas modificações sugeridas a este trabalho no exame de qualificação e defesa de dissertação.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), na pessoa do Magnífico Reitor **Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa**.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu Diretor, **Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior**.

Ao **Dr. Manoel Perboyre Gomes Castelo**, grande responsável pela minha iniciação na Radiologia Odontológica, exemplo, mestre e professor que me abriu portas e janelas. Obrigado por ter acreditado e apostado em mim. Meu muito obrigado e gratidão também à **Dra. Diá**, responsável pelos meus primeiros passos na especialidade, pela oportunidade de vivenciar o "mundo radiológico" e na sua infinita humildade, repassar todos os seus conhecimentos para o seu aprendiz.

Ao **Prof. Dr. Lúcio Kurita**, pelo incentivo profissional, pelas oportunidades de trabalho e principalmente pela amizade, pelos grandes momentos vividos e compartilhados.

Aos **professores da Universidade de Fortaleza e da Academia Cearense de Odontologia**, que guiaram minha caminhada acadêmica, transmitindo conhecimentos profissionais e de vida. Agradeço, também, a todos os meus colegas de graduação.

Aos técnicos e funcionários da Clínica de Radiologia Odontológica da FOP-UNICAMP, **Waldeck, Fernando e Giselda**, e à nossa querida e competente secretária **Lú**, pela dedicação em auxiliar a todos os alunos da pós-graduação e por suportarem minhas constantes mudanças de humor.

Aos meus amigos-irmãos de Piracicaba **Sérgio Lins, Karla Rovaris, Yuri Nejaim, Gabriella Barbosa, Débora Távora, Taruska Ventorini, Anne Oenning, Karla Vasconcelos, Saulo Melo, Amaro Vespasiano, Frederico Sampaio, Manuella Belém, Maria Augusta Visconti, Naiara de Paula e Mauro Nóbilo** por fazerem desta fase uma das mais especiais de minha vida, fazendo com que a saudade de casa fosse um pouco aliviada. Obrigado pela convivência de muito aprendizado e evolução.

Aos colegas da Radiologia **Débora Duarte, Gina Roque, Thiago Gamba, Amanda de Araujo, Carolina Cintra, Letícia Nery, Daniela Brait, Laura Ramírez, Maria Beatriz Alonso, Matheus de Oliveira, Monikelly do Nascimento, Ana Caroline de Brito, Helena Aguiar, Liana Ferreira, Paulo de Tarso Silva, Rafaela Argento, Ilana Sanamaika Queiroga e Saione Sá** e pelo convívio e momentos compartilhados.

Aos amigos da Pós-Graduação de outras áreas, **Andréa Araujo, Camilla Borges, José Ribamar Sabino, Tarcísio Leitão** e outros, por momentos de descontração vividos.

Aos funcionários do biotério, **Fábio e Wanderley**, no auxílio da limpeza das gaiolas e contenção dos animais, sendo de fundamental auxílio para realização desta pesquisa.

A todos da Histologia e Endodontia, em especial, **Cidinha, Eliene, Juliana e Ana**, pelo apoio imprescindível para a confecção deste trabalho e por todas as risadas neste período.

Ao **Hospital dos Fornecedores de Cana e seus funcionários**, pela acolhida e auxílio na radioterapia dos animais desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal (**CAPES**) pela bolsa de Mestrado concedida.

“Aprendi que vai demorar muito pra me transformar na pessoa que quero ser, mas aprendi também, que posso ir além dos limites que eu próprio coloquei.”

(Charles Chaplin)

RESUMO:

O presente trabalho teve como proposta avaliar o efeito radioprotetor de uma solução homeopática sobre a função salivar e a morfologia de glândulas parótidas de ratos irradiados. A amostra foi composta por 150 animais que foram divididos, aleatoriamente, em 6 grupos de 25 animais: G1 (grupo controle) – recebeu solução salina v.o., mas não foi irradiado; G2 (controle Irradiado) – tratamento idêntico ao G1 e recebeu dose única de irradiação de 15 Gy; G3 (álcool) – recebeu solução hidroalcoólica dinamizada em 15 CH v.o.; G4 (álcool irradiado) – tratamento idêntico ao G3 e recebeu irradiação; G5 (homeopatia) - recebeu 0,25 ml (aproximadamente 1ml/kg) da solução hidroalcoólica irradiada com 15 Gy e dinamizada em 15 CH v.o.; G6 (homeopatia irradiado) tratamento idêntico ao G5 e foi submetido à irradiação. Decorridos os tempos de 12 horas, 3, 10, 17 e 24 dias após a administração dos fármacos, todos os animais foram induzidos à salivação. Analisando a função salivar, foram observadas diferenças estatisticamente significantes somente para o período de 17 dias, no qual os animais irradiados e tratados com a formulação homeopática mostraram maior salivação dos que os demais grupos na mesma condição. Na análise morfométrica foi medido o número de ácinos em função do tempo, considerando cada grupo separadamente. A análise dos resultados mostrou que houve diferença estatisticamente significativa somente para o grupo de animais que recebeu álcool e foi irradiado. Esses animais apresentaram uma tendência de diminuição do número de ácinos ao longo do tempo. Já os animais que receberam homeopatia ou o controle e foram irradiados, não mostraram diferenças estatisticamente significantes ao longo do tempo, sugerindo que o tratamento homeopático pode ter diminuído o efeito do álcool sobre o número de ácinos. Concluiu-se, por meio da função salivar, que houve um efeito radioprotetor tardio da solução homeopática. Pode-se concluir também, por meio da análise da morfologia da glândula parótida, que houve um efeito radioprotetor da solução homeopática.

Palavras-chave: Radioterapia, Homeopatia, Glândulas Salivares

Abstract:

The aim of the present study was to evaluate the radioprotective effect of a homeopathic solution in the salivary function and in the parotid gland morphology in irradiated rats. The sample size was 150 rats randomly divided in 6 groups with 25 animals each. The groups were named based on the medication: G1 (Control) – animals received saline solution, p.o., but they were not irradiated; G2 (Irradiated Control) – received the same treatment on G1 and a single dose of 15 Gy of irradiation; G3 (Alcohol) – received a hydroalcoholic solution dynamized at 15 CH, p.o.; G4 (Irradiated Alcohol) – received the same treatment on G3 and a single dose of irradiation; G5 (Homeopathy) – received 0.25 ml (~1mL/kg) of the hydroalcoholic solution irradiated at 15 Gy and dynamized at 15 CH, p.o.; G6 (irradiated homeopathy) - received the same treatment on G5 and a single dose of irradiation. Each group was subdivided in 5 different groups, based on the time point of the euthanasia: 12 hours, 3, 10, 17, and 24 days. The medication was applied for 7 days before and 7 days after the radiation treatment. The irradiated groups received only one dose of 15Gy and after the determined times salivation were induced. The salivary function analysis showed that only the G6 group that was euthanized on the day 17 had a statistical significant difference when compared to the others irradiated groups showing a higher salivation flow rate. In the morphometric analysis, the number of acini present over the time in the parotid gland was observed. The only group that showed a statistical significant difference was the Alcohol Irradiated. This group showed a tendency of reduction in the number of acini over the time. Data from the irradiated homeopathy and irradiated control group were not statistical significant. This suggests that the homeopathic treatment might have reduced the alcohol effect on the number of acini. The homeopathy had a late radioprotective effect of the homeopathic solution based on the salivary function. In addition, it also had a radioprotective effect of the homeopathic solution based on the morphology analysis of the parotid gland.

Keywords: Radiotherapy, Homeopathy, Salivary Glands

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	5
3. PROPOSIÇÃO	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
5. RESULTADOS	37
6. DISCUSSÃO	45
7. CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXO	59

1. INTRODUÇÃO

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células, que invadem tecidos e órgãos. Dividindo-se rapidamente, essas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores malignos, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo. As causas do câncer são variadas e inter-relacionadas, podendo ser externas ou internas ao organismo. As externas referem-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de uma sociedade. As internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas e estão ligadas à capacidade do organismo de defesa às agressões externas. No Brasil, as estimativas para o ano de 2012 serão válidas também para o ano de 2013 e apontam a ocorrência de aproximadamente 518.510 novos casos de câncer, incluindo os casos de pele não melanoma, reforçando a magnitude do problema dessa patologia no país (INCA 2012).

Dentre as modalidades de tratamento de lesões cancerígenas, a radioterapia tem se mostrado bastante eficaz, seja associada ou não à quimioterapia e a técnicas cirúrgicas. A radioterapia tem como princípio ativo a radiação ionizante, à partir da ionização do meio incidente, fazendo com que as células cancerígenas tenham as estruturas desorganizadas e conduzidas à morte ou à interrupção da capacidade reprodutiva destas. É bem verdade que a radioterapia possui o foco no tratamento de pacientes oncológicos, porém tal modalidade pode também ser empregada em lesões benignas, como hiperfunção da glândula tireóide, má formação artério-venosa no cérebro, prevenção de quelóides e cicatrizes hipertróficas, tratamento de oftalmopatia de Grave, dentre outras.

Apesar dos benefícios trazidos pela radiação, diversos efeitos deletérios também são relatados, pois para a realização do tratamento radioterápico, utiliza-se um campo com dimensões suficientes para englobar não somente o tumor,

mas também parte de tecidos sadios adjacentes à lesão. Dessa forma, estruturas normais que estejam nesse campo também são irradiadas.

Os efeitos adversos são regulados por fatores inerentes ao tratamento e ao paciente, como: volume e local irradiados, dose total de radiação, fracionamento da dose, idade, condições clínicas do paciente e tratamentos associados.

No caso da região de cabeça e pescoço, inúmeros efeitos são relatados, como: hemorragia, processos infecciosos, exacerbação de infecções preexistentes, mucosites, xerostomia, lesão cariosa por radiação e interrupção no desenvolvimento dentário. As alterações na odontogênese podem resultar em hipoplasia de esmalte, agenesia dentária, microdontia, afilamento e alargamento da câmara pulpar.

As glândulas salivares são estruturas que podem estar dentro desse campo. Quando submetidas a altas doses de radiação, as glândulas salivares têm a função diminuída ou extinta, seja de maneira temporária ou definitiva. As mudanças no padrão glandular são ocasionadas pelo decréscimo no volume da glândula e mudança na composição salivar, provocando xerostomia, desconforto na mucosa oral, perda do paladar, dor ao falar e deglutir, lesões cariosas, infecções e até mesmo distúrbios relacionados ao sono, ou seja, condições que afetam diretamente a qualidade de vida do paciente oncológico.

A saliva exerce importante papel na obtenção e manutenção da saúde bucal, sendo responsável por lubrificar e proteger a cavidade oral e a faringe superior. Além disso, a saliva modula a concentração das populações microbianas no interior da cavidade oral, protege os dentes participando do processo de remineralização, equilibra o pH do meio bucal, auxilia na preparação do bolo alimentar inicial e lubrifica a mucosa oral.

A xerostomia é a complicação mais frequente em pacientes que se submetem à radioterapia na região de cabeça e pescoço, podendo ser

evidenciada já na primeira semana de tratamento. É caracterizada pela sensação de boca seca, justificada pela diminuição da produção salivar, fator mais significativo. Além do desconforto induzido, os pacientes também sofrem de fissuras dos lábios e língua, diminuição da acuidade de gosto e dificuldade na mastigação, deglutição e fala. Além disso, a xerostomia também faz com que as doenças periodontais se agravem, bem como a propensão a lesões cáries. O tratamento para tal disfunção ocorre por meio de substitutos ou indutores da saliva como saliva artificial, xilitol, sorbitol, pilocarpina, ácido nicotínico e outras drogas.

Uma forma de minimizar as sequelas da radiação no indivíduo irradiado é a utilização de radioprotetores. As substâncias radioprotetoras visam combater os malefícios da radioterapia, através da sua função antioxidante e pela captação de radicais livres que são formados a partir da interação da radiação com o tecido. Têm-se pesquisado radioprotetores eficazes na tentativa de minimizar os efeitos deletérios da radioterapia. A busca por uma substância que possua todas as características de idealidade é constante, porém agregar todos os requisitos como menor toxicidade, fácil manipulação e efeito duradouro é tarefa das mais laboriosas.

Muitas são as fontes das substâncias radioprotetoras. Estudos investigativos de radioprotetores englobam substâncias de origem sintética e natural, entre eles, amifosfatina, aminopropilamina, histamina, cafeína, antioxidantes (Vitaminas A, E, C, polifenóis, sódio, zinco, selênio), vegetais (alho, cúrcuma, extrato de *Ginkgo biloba*) comprovando as ações radioprotetoras dessas substâncias (Weiss & Landauer, 2000, Vacha *et al.* 2003, Arora *et al.* 2005, Tuji *et al.* 2010).

A Homeopatia não é uma descoberta recente, há relatos do uso desse tratamento por Hipócrates, considerado idealizador da técnica. O tratamento homeopático foi evidenciado por Samuel Hahnemann, médico alemão, que realizou uma experiência em si mesmo para avaliar o efeito da idéia por ele

defendida. Tema constante nas discussões da literatura, apesar de muitos discordantes e incrédulos, o tratamento homeopático é amplamente difundido e possui adeptos em todo o mundo. Sua prática é geralmente utilizada de maneira alternativa e complementar no controle e na cura de doenças. Erroneamente, a técnica costuma ser confundida com o efeito placebo, porém o tratamento homeopático possui um princípio ativo, diferentemente de tratamentos realizados à base de medicamentos placebo.

Quebrando o paradigma do tratamento alopático, a homeopatia é regida pelo princípio da similaridade, onde a cura é estabelecida a partir do uso de substâncias semelhantes aos sintomas da doença adquirida, estimulando o organismo à auto-cura. Através de altas diluições alcoólicas e agitações vigorosas, o princípio ativo do medicamento homeopático é potencializado e apresenta tendência de melhora no tratamento de diversas patologias, até mesmo no tratamento alternativo de pacientes oncológicos. Diante da eficiência de sua ação, surge então a possibilidade de utilização da prática homeopática como radioprotetor.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Radioterapia

Novaes, em 1998, conceituou a radioterapia como uma modalidade de tratamento utilizada para certos tipos de tumores malignos, cujo agente terapêutico é a radiação ionizante, que atua promovendo ionização no meio onde incide, tornando este meio eletricamente instável.

Tsujii, em 1985, afirma que a maioria dos pacientes submetidos à radioterapia recebe uma dose total de 50-70 Gy como dose curativa. Essas doses são fracionadas em um período de 5-7 semanas, uma vez ao dia, 5 dias por semana, com dose diária de aproximadamente 2 Gy. Nos tratamentos adjuvantes, 45 Gy são empregados no pré-operatório e 55-60 Gy no pós-operatório.

Segundo Murad & Katz (1996), as radiações ionizantes agem sobre o DNA nuclear levando à morte ou à perda da sua capacidade reprodutiva. Como o conteúdo de DNA é duplicado durante a mitose, células com alto grau de atividade mitótica são mais radiosensíveis do que aquelas com baixa taxa de mitose. A ação da radiação ionizante pode ser direta ou indireta, podendo causar complicações tardias variando em intensidade sendo, em geral, classificadas em leves, moderadas e graves.

Salvajoli *et al.* (1999) cita que por estarem em contínuo processo de multiplicação, as células neoplásicas são passíveis de sofrerem os efeitos da radiação. Entretanto, a capacidade de multiplicação varia de acordo com o tipo celular. Desta forma, existe uma escala de radiosensibilidade tanto para células tumorais como para células normais. Neoplasias embrionárias e linfomas são tumores radiosensíveis, enquanto que carcinomas são moderadamente radiosensíveis.

A patogênese do dano às glândulas salivares maiores após os efeitos cumulativos da radioterapia, segundo Nagler (2002), envolve desde uma injúria

celular até um dano subletal ao DNA, manifestando-se de forma letal em uma fase tardia. Assim, no momento em que as células acinares progenitoras seguem para fase reprodutiva e para o restabelecimento do parênquima, elas degeneram. Os radicais livres na presença de íons celulares como o ferro e o cobre são os agentes envolvidos no processo de morte celular tardia.

De acordo com Spetch (2002), reações adversas à radioterapia dependem do volume e do local irradiados, da dose total de radiação, do fracionamento, da idade e das condições clínicas do paciente, bem como dos tratamentos associados. O autor cita que uma pequena elevação na dose tumoral é suficiente para aumento expressivo na incidência de complicações. Reações agudas ocorrem durante o curso do tratamento e em geral são reversíveis. Já, as complicações tardias são comumente irreversíveis, resultando em incapacidade permanente e em piora da qualidade de vida.

Segundo Albuquerque *et al.* (2007), as complicações mais frequentes a que pacientes submetidos ao tratamento radioterápico na região de cabeça e pescoço estão susceptíveis são: hemorragia, processos infecciosos, exacerbação de infecções preexistentes, mucosites, xerostomia, lesão cariosa de radiação e interrupção no desenvolvimento dentário. Podendo levar ainda a alterações na odontogênese como hipoplasia de esmalte, estagnação do desenvolvimento dentário, agenesia, microdontia e alterações na rizogênese, tais como interrupção, afinamento e alargamento da câmara pulpar.

Em 2007, Li *et al.* investigaram a relação entre a dose de radiação e a mudança salivar durante dois anos após o tratamento antineoplásico. Os pacientes foram tratados com radioterapia (RXT) e tiveram suas taxas de fluxo salivar medidas antes e 1, 3, 6, 12, 18, e 24 meses após o tratamento. Foi constatado que glândulas salivares que receberam maior dose de radiação produziram menos saliva. Para doses mais elevadas, acima de 30 Gy, a saliva

estimulada não voltou aos níveis originais após 2 anos. Os autores concluíram que a produção salivar é afetada significativamente pela radiação.

De acordo com Otmani (2007), muitas são as modalidades de terapias aplicadas no combate ao câncer, sendo a radioterapia vastamente utilizada no tratamento, agindo de forma eficaz, seja de forma isolada ou combinada à quimioterapia e/ou procedimento cirúrgico.

Niehoff *et al.* em 2008, estudaram a ação da dose única de 20 Gy por braquiterapia em ossos e dentes de ratos. Os animais foram sacrificados 100 dias após a irradiação e foi observado que a dose foi bem tolerada e que 2 semanas após o procedimento notava-se alopecia no lado direito e redução do incisivo inferior direito. Além disso, os animais do grupo irradiado apresentaram menor aposição óssea.

Vasconcelos *et al.* (2009) avaliaram o desenvolvimento dental, através do comparativo da idade dentária, em crianças e adolescentes portadores de leucemia infantil, que foram submetidos à radioterapia. Uma diferença significativa foi encontrada entre a idade cronológica e dental dos pacientes submetidos à terapia antineoplásica, quando comparados ao grupo controle. Foi concluído que a radioterapia pode interferir na maturidade dental, bem como na formação e desenvolvimento radicular.

Lôbo & Martins (2009) atestam a importância do tratamento radioterápico no combate ao câncer, mas enfatizam a falta de especificidade do tratamento, por destruir tanto as células tumorais quanto as normais.

De acordo com Hong *et al.* (2010), embora eficazes na erradicação do tumor, os tratamentos podem trazer prejuízos a estruturas adjacentes. Geralmente, os efeitos diretos nas estruturas orais são decorrentes da radioterapia e quimioterapia, já os efeitos indiretos têm sua origem a partir da toxicidade

sistêmica. Segundo o autor, a ressecção cirúrgica, a radioterapia e a quimioterapia formam as bases estruturais do combate ao câncer de cabeça e pescoço.

2.2 - Efeito da radiação ionizante sobre as glândulas salivares

De acordo com Schneyer & Schneyer (1967), a saliva tem sua produção de até 1,5 litros por dia em adultos saudáveis, é responsável por lubrificar e proteger a cavidade oral e a faringe superior. Além disso, modula a concentração das populações microbianas no interior da cavidade oral, protege os dentes participando do processo de remineralização e auxilia na preparação do bolo alimentar inicial. O autor ainda cita que os seres humanos possuem dois tipos de glândulas salivares, as maiores e as menores. Essas são compostas por um sistema bem vascularizado de ácinos e ductos, e divididas em lobos e lóbulos, separados por septos de tecido conjuntivo que contêm vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervos e ductos. Há três pares de glândulas salivares maiores: parótidas, submandibulares e sublinguais. As glândulas parótidas são compostas puramente por elementos serosos, enquanto as glândulas submandibulares e sublinguais contêm células tanto mucosas quanto serosas.

De acordo com Cheyne (1939), as glândulas salivares do homem e ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem *Wistar* apresentam diversas semelhanças sob o ponto de vista histológico, fisiológico e sobre o tipo de ação e secreção enzimática, sendo frequentemente usado como modelo experimental para estudos nesse sentido.

Mossman *et al.* estudaram em 1981, o efeito da radioterapia no fluxo salivar, na concentração de proteínas e na atividade da amilase salivar na glândula parótida de pacientes submetidos à radioterapia com radiação gama por Co^{60} . A análise da concentração de proteína total foi realizada por três métodos, os quais refletem diferentes propriedades de cada tipo de proteína. A avaliação foi

realizada antes da radioterapia e em intervalos semanais. Os pacientes foram divididos em três grupos: irradiado, incluindo no campo de tratamento as glândulas parótidas (A); irradiado sem englobar a região da parótida (B) e o grupo controle não irradiado (C). Foi possível observar que antes do tratamento todos os parâmetros avaliados encontravam-se similares aos do grupo controle normais. No grupo A, houve diminuição significativa no fluxo salivar e na taxa de proteína total na 1^o semana de tratamento. Para o grupo B, a taxa de fluxo salivar, a proteína total e a atividade de amilase foram similares aos do grupo C, antes e após 3 semanas de tratamento. Os autores sugeriram que as proteínas salivares da parótida não são igualmente afetadas pelo tratamento radioterápico.

Anderson *et al.* (1981) relataram as mudanças estruturais nas glândulas salivares decorrentes da irradiação de acordo com a região avaliada. Os ácinos apresentaram uma maior radiosensibilidade, sendo, portanto a parte mais sensível da estrutura glandular frente à radiação X, enquanto que os ductos estriados e convolutos mostraram uma radiosensibilidade intermediária. Já os ductos externos e extra lobulares apresentaram-se radorresistentes.

Em 1989, Roslindo *et al.* através de uma análise histomorfológica das glândulas parótidas de ratos submetidos à radiação ionizante, verificaram que os ácinos serosos e os ductos estriados são as estruturas com maior radiosensibilidade.

Em 1990, Vissink *et al.*, realizaram um estudo com o objetivo de monitorar a composição e a taxa de secreção das glândulas salivares de ratos. Os animais foram submetidos a doses de radiação de 5 a 20 Gy. Observou-se que com o aumento da dose e do tempo ocorreu diminuição do fluxo salivar e da concentração de sódio. As mudanças na *lag phase* e no fluxo salivar foram mais significativas com doses de 15 Gy ou 20 Gy. Sendo assim, os autores concluíram que mudanças irreversíveis são observadas a partir da irradiação de 10 Gy. Em doses acima de 15 Gy pode-se observar saturação dos efeitos da radiação.

De acordo com Atkinson & Fox (1992), as glândulas salivares participam do sistema imune contendo substâncias microbianas como lisozimas, lactoferrinas, peroxidases e histaminas fúngicas. A xerostomia, caracterizada pela sensação de boca seca, é o sintoma mais proeminente de longo prazo em muitos sobreviventes do câncer de cabeça e pescoço, afetando negativamente a qualidade de vida em termos de saúde, conforto e função. Segundo o autor, além do desconforto induzido, os pacientes também sofrem de fissuras dos lábios e língua, diminuição da acuidade de gosto e dificuldade na mastigação, na deglutição e na fala. Além disso, a xerostomia também faz com que as doenças periodontais se agravem, bem como a propensão de lesões cariosas.

Nagler *et al.* (1993a), avaliaram funcionalmente glândulas parótidas e submandibulares de ratos durante as primeiras 24 horas, após irradiação única de 15 Gy de radiação X na região de cabeça e pescoço. O fluxo salivar das glândulas foi medido nos tempos de 0,5; 1; 4 e 24 horas após a irradiação, não sendo observadas alterações significantes na glândula submandibular, em nenhum dos tempos avaliados. Entretanto, na glândula parótida nos tempos de 0,5 a 4 horas, houve redução de aproximadamente 42% do fluxo salivar. Em relação ao peso glandular, os autores observaram que 1 hora após a irradiação já havia diferença entre o grupo irradiado e o grupo controle. Após 24 horas, o peso foi aproximadamente 23% menor no grupo irradiado. Não houve diferença na concentração de proteínas na composição da saliva, porém o nível de sódio no grupo irradiado foi significativamente menor que o controle até 24 horas após a irradiação.

Ainda no mesmo ano, Nagler *et al.* (1993b) avaliaram os efeitos de diferentes doses de radiação nas glândulas salivares maiores de ratos. Foram avaliados os pesos glandulares, o peso corpóreo e o fluxo salivar nos 3º e 40º dias após a irradiação com exposição aguda única das seguintes doses: 2,5; 5; 7,5; 10 e 15 Gy de radiação X. Houve uma redução do peso, tanto da glândula parótida quanto da submandibular, bem como do peso corporal dos animais nos dois

tempos avaliados, que se comportaram de maneira dose dependente. Foi observada também uma redução dose dependente na função apenas da glândula parótida 3 dias após a irradiação, sendo significativa somente com dose de 15 Gy, com redução do fluxo salivar em 69%. No 40º dia, a redução no fluxo salivar estava presente em ambas as glândulas. Com dose de 15 Gy, o fluxo salivar da parótida foi reduzido em 56% quando comparado com o grupo controle. A redução máxima na função da submandibular foi encontrada com uma dose de 10 Gy, havendo diminuição de 56% quando comparada com o grupo controle.

Leslie & Dische (1994) observaram, em estudo realizado com 47 pacientes sob tratamento radioterápico radical, que as glândulas parótidas apresentam maior sensibilidade à radioterapia quando comparada às glândulas submandibulares e sublinguais, e que a redução no fluxo salivar é dependente tanto da dose de radiação, quanto da proporção da glândula incluída na direção do campo de irradiação.

Funegard *et al.* (1994) afirmaram que as glândulas salivares, geralmente, estão incluídas na área de irradiação do tratamento radioterápico para câncer de cabeça e pescoço, acarretando prejuízos inevitáveis aos tecidos que as compõem. Alterações funcionais podem ocorrer dependendo da dose de radiação utilizada no tratamento e do volume de tecido irradiado, podendo ainda ser observada diminuição do fluxo salivar e alteração na composição da saliva na primeira semana de tratamento.

Em 1998, Nagler *et al.* afirmam que as glândulas parótidas são as mais acometidas e sensíveis ao tratamento radioterápico, enquanto as glândulas submandibulares e sublinguais apresentam maior resistência. Os autores avaliaram a taxa de fluxo salivar da parótida e submandibular, individualmente aos 3, 6, 9 e 12 meses após doses únicas de 2,5; 5; 7,5; 10; 15 Gy de radiação X. Quanto ao fluxo salivar da parótida, foi observada redução significativa para doses iguais ou acima de 5 Gy aos 3 meses. No período compreendido entre 6 e 9

meses também houve alteração, e aos 12 meses todos os grupos mostraram reduções significativas na salivação, incluindo uma redução média aproximada de 40% com uma dose única de 2,5 Gy, e de 80% com dose de 10 Gy. Na glândula submandibular, o padrão dos efeitos da radiação foi similar, sendo que aos 12 meses a redução em média da taxa do fluxo salivar foi de aproximadamente 40% para as doses de 2,5 e 75% para as doses de 10 Gy. Foi observado que, em períodos mais tardios (3-12 meses) ambas as glândulas apresentam danos funcionais e estruturais dose-dependente similares.

De acordo com O'Connell *et al.* (1999), a xerostomia se desenvolve na primeira semana da radioterapia, é progressiva e seus efeitos são devastadores. O mecanismo exato de injúria aos tecidos ainda é incerto, mas estudos experimentais em animais vêm sendo realizados para prevenir ou aliviar a hipofunção salivar decorrente da irradiação.

Coppes *et al.* (2002) compararam a radiosensibilidade das glândulas parótidas e submandibulares. Para tanto, grupos de ratos *Wistar* foram submetidos à dose única de 15 Gy ou dose fracionada. Foi realizada avaliação histomorfológica e análise de fluxo salivar e da quantidade de amilase salivar previamente, 1, 3, 6, 10, 22, 30, 38, 60, 120, 180 e 240 dias. Antes do período de 120 dias após a irradiação, não foram observadas diferenças entre as glândulas e as formas de aplicação da radiação. Após 120 dias, as diferenças observadas na função corresponderam aos achados histomorfológicos entre as glândulas salivares. A glândula parótida apresentava mais células das porções secretoras terminais e maior peso, com menores alterações na função e composição quando houve fracionamento da dose de radiação. Os danos nas glândulas submandibulares não diferiram quanto à forma de aplicação da radiação, porém mostraram-se maiores que os encontrados na glândula parótida. Diante dos resultados, os autores concluíram que a glândula submandibular é mais radiosensível que a glândula parótida nos casos de efeitos tardios após irradiação fracionada e sugeriram que possa ser devido à reduzida capacidade

dos seus ductos intercalados de gerar células das porções secretoras terminais ao alcançar sua completa formação.

Em 2006, Shan *et al.* avaliaram os efeitos de um protocolo de uma única dose de radiação ionizante sobre a estrutura e função da glândula parótida de mini porcos. Dois grupos de quatorze animais foram submetidos, a 15 e a 20 Gy de radiação. Outros quatro animais serviram como controles não-irradiados. As taxas de fluxo e bioquímica salivar foram avaliadas antes, 4 e 16 semanas após a irradiação. As taxas de fluxo salivar diminuíram cerca de 50% com 20 Gy em quatro semanas, e com 15 Gy em 16 semanas após a irradiação. No grupo de 20 Gy, as taxas de fluxo salivar foram reduzidas em cerca de 80% em 16 semanas após a irradiação. A diminuição significativa no cálcio e na amilase salivar e o aumento dos níveis de potássio salivar foram encontrados em ambos os grupos irradiados. Houve também alterações transitórias na química sérica e parâmetros hematológicos após a irradiação. Os pesos das glândulas parótidas foram significativamente menores (50%) nos dois grupos irradiados, em 4 e 16 semanas após a irradiação. Além disso, as células acinares de ambos os grupos irradiados foi significativamente reduzida quando comparadas com o controle. Os autores concluíram que as alterações estruturais no parênquima da glândula salivar ocorreram relativamente cedo após a irradiação, enquanto que as alterações na produção de saliva foram relativamente demoradas. Além disso, a redução do fluxo salivar não foi proporcional à perda de área da célula acinar. Juntos, estes resultados sugerem que os danos celulares causados pela irradiação, provavelmente contribui para a hipofunção salivar.

Segundo Boraks *et al.* (2008), a elevada radiosensibilidade das células serosas presentes nas glândulas salivares é a base para a explicação da elevada radiosensibilidade das glândulas parótidas, visto que há uma prevalência muito maior de células serosas na glândula parótida, em comparação com as glândulas submandibulares e sublinguais. Os autores avaliaram alterações ultra estruturais em glândulas parótidas de ratos que receberam e não receberam uma dose

fracionada de 15 Gy de radiação emitida por uma fonte de Césio-137. Após o sacrifício dos animais, as glândulas parótidas foram removidas e examinadas por microscopia eletrônica de transmissão. Danos, tais como vacuolização citoplasmática, dilatação do retículo endoplasmático e destruição das mitocôndrias, bem como danos na membrana celular das células acinares foram observados. Esses achados levaram à conclusão de que a radiação ionizante promove alterações no parênquima glandular, e que estas alterações estão diretamente relacionadas com o nível de dose de radiação absorvida.

2.3 - Radioproteção nas glândulas salivares

O primeiro estudo *in vivo* sobre radioprotetores efetivos no combate aos antioxidantes da radiação ionizante data de mais de meio século. Em 1949, Patt *et al.* relataram que o ácido aminotiol e a cisteína protegeram ratos contra doses letais de radiação X.

Em 1996, Gupta estudou o efeito radioprotetor de um óleo insaturado à base de alho em fígados de ratos machos. Foram observadas as mudanças que ocorriam nos lipídios, triglicerídeos, fosfolipídios e ácidos graxos livres durante o período de 1 a 14 dias pós-tratamento radioterápico. Os resultados obtidos indicaram que o óleo de alho impediu o rápido aumento de lipídios totais hepáticos, triglicerídeos e fosfolipídios e também diminuíram os ácidos graxos livres induzidos pela radiação, chegando à conclusão que a substância apresentou ação radioprotetora.

Nagler *et al.* (1997) estudaram o papel dos íons metálicos ferro e cobre no dano radioinduzido e avaliaram a proteção às glândulas salivares parótida e submandibular de ratos. Foram utilizados quatro grupos: grupo controle; grupo que recebeu injeção de solução salina; grupo que recebeu injeção de solução salina+pilocarpina; e grupo que recebeu injeção de pilocarpina+ciclotidina. Todas

as soluções foram administradas intraperitonealmente, 90 minutos antes da irradiação de 15 Gy de radiação X na região de cabeça e pescoço. Notou-se uma acentuada perda da função em ambas as glândulas salivares. A ciclotidina é um potente agente degranulador e conferiu 90% de proteção, enquanto que a pilocarpina resultou em apenas 13% de proteção às glândulas parótidas irradiadas, já na submandibular não houve proteção contra a perda de função salivar. A composição da saliva da parótida no grupo pilocarpina+ciclotidina estava acentuadamente rica em ferro, cobre, manganês e proteína, mas na submandibular nenhuma diferença foi encontrada. Os autores concluíram que a ciclotidina induz degranulação na parótida, mas não na submandibular, sendo bem provável que estes íons metálicos presentes na saliva estejam associados com a mobilização de grânulos de secreção das células serosas, promovendo reações de radicais livres que estão envolvidos no processo do dano tecidual.

Em 2001, Coppes *et al.* avaliaram o efeito radioprotetor da fenilefrina, do isoproterenol, da pilocarpina e da metacolina nas glândulas parótidas de ratos *Wistar* machos submetidos a dose de 15 Gy de radiação X. Os animais foram divididos nos grupos: controle; irradiado; tratado com isoproterenol; tratado com fenilefrina; tratado com pilocarpina; tratado com metacolina; e tratado com as associações de duas das quatro substâncias estudadas, todos 60 minutos antes da irradiação. A função e a análise histomorfológica das glândulas salivares foram realizadas nos tempos 1, 3, 7, 10, 30, 60, 120, 180 e 240 dias seguidos à irradiação. A irradiação na fase aguda (10 primeiros dias) causou um declínio no fluxo salivar, sem mudanças na secreção de amilase salivar e no número de células acinares. Na fase inicial (10-60 dias) ocorreu decréscimo de secreção de amilase salivar e das células acinares, continuando similar na fase intermediária (60-120 dias). Na fase tardia (120-240 dias) a função tornou-se bastante comprometida, com maior desorganização tecidual, apesar de ter sido observado um aumento na quantidade de células acinares. Todos os fármacos estudados promoveram efeito radioprotetor nas fases aguda e inicial, mas com perda de

efeito protetor na fase tardia, com exceção para a associação da metacolina e felinefrina. Os autores sugerem a aplicação clínica da associação da metacolina e felinefrina como método radioprotetor na radioterapia de cabeça e pescoço.

Kim *et al.* (2003) estudaram o efeito da cafeína como agente radioprotetor em camundongos. Os animais foram irradiados com uma dose de 6,5 Gy e receberam uma injeção de cafeína uma hora após a radiação. Após seis horas do tratamento radioterápico os animais foram sacrificados. Através de uma análise hormonal foi constatado que a cafeína possuía uma ação protetora contra o início precoce de apoptose celular após irradiação.

No mesmo ano de 2003, Manzi *et al.* estudaram a ação radioprotetora da vitamina E no processo de reparação tecidual em ratos. Os animais foram divididos em cinco grupos: controle, no qual os animais passaram apenas pelo procedimento cirúrgico; vitamina E, caracterizado por animais que sofreram o procedimento cirúrgico um dia após a administração intraperitoneal de três doses, com intervalo de 48 horas, de vitamina E; irradiado, constituído por animais que foram localmente irradiados com dose de 6 Gy, três dias após a realização da ferida cirúrgica; vitamina E/irradiado, grupo no qual os animais sofreram os mesmos procedimentos dos grupos vitamina E e irradiado; óleo de oliva/irradiado, caracterizado por animais que sofreram o procedimento cirúrgico um dia após a administração intraperitoneal de três doses, com intervalo de 48 horas, de óleo de oliva. A avaliação foi realizada aos 4, 7, 14 e 21 dias após a confecção da ferida. Os autores observaram que não houve diferença morfológica no processo de reparação tecidual entre o grupo vitamina E/irradiado e o grupo controle em todos os tempos avaliados. Em relação ao grupo irradiado e óleo de oliva/irradiado, o grupo vitamina E/irradiado apresentou um processo de reparação tecidual mais adiantado. Portanto, foi concluído que a vitamina E atuou junto ao processo de reparação tecidual como um eficiente radioprotetor.

De acordo com Arora *et al.* (2005), o desenvolvimento de agentes radioprotetores tem sido objeto de intensa investigação, tendo em vista o grande potencial para uso em um ambiente de radiação, tais como a exploração do espaço, radioterapia e até mesmo uma guerra nuclear. No entanto, os radioprotetores disponíveis na atualidade não preenchem os requisitos da idealidade e segurança, logo a busca de fontes alternativas permeia a literatura por décadas.

Em 2006, Ramos *et al.* avaliaram o efeito radioprotetor da vitamina E na função das glândulas salivares, e analisaram a concentração de proteína total. Foram utilizados 90 ratos machos divididos em cinco grupos experimentais: controle, em que os animais receberam óleo de oliva, mas não foram irradiados; irradiados-óleo de oliva, em que os animais receberam óleo de oliva e foram irradiados com uma dose única de 15 Gy de raios gama na região de cabeça e pescoço; irradiado somente, em que os animais foram irradiados com uma única dose de exposição de 15 Gy de radiação gama; vitamina E, em que os animais receberam uma solução de acetato de tocoferol, mas não foram irradiados; e irradiado-vitamina E, em que os animais receberam uma solução de acetato de tocoferol, antes da irradiação também com uma única dose de exposição de 15 Gy de raios gama. Os animais foram sacrificados 4h, 8h e 30 dias depois do procedimento de irradiação. Não foram observadas diferenças no volume salivares entre os grupos de 4 e 8 horas. Com 30 dias, o volume de saliva dos animais pertencente ao grupo do óleo de oliva irradiado foi significativamente reduzido em relação ao grupo controle. O grupo irradiado apresentou significativa diminuição do volume salivar. Na composição salivar, não foram observadas diferenças significativas no conteúdo de proteína total. Concluiu-se que radiação não teve efeito sobre o teor de proteína total e que a vitamina E protegeu a função salivar 30 dias após irradiação. Assim, a vitamina E pode ser considerado como uma substância radioprotetora em potencial.

Tuji *et al.* (2010) avaliou o efeito radioprotetor do selenito de sódio em glândulas parótidas de ratos, por meio da análise ultra-estrutural das células acinares. Foram utilizados ratos subdivididos em quatro grupos experimentais: controle, irradiado, selênio e selênio/irradiado. Os animais pertencentes aos grupos irradiado e selênio/irradiado foram submetidos a 15 Gy de radiação gama na região de cabeça e pescoço. Nos animais correspondentes aos grupos selênio e selênio/irradiado foi administrado 0,5 mg/kg de peso de selenito de sódio por via intraperitoneal 24 horas antes da irradiação. As glândulas parótidas foram removidas após 4, 8, 12, 24, 48 e 72 horas da irradiação. A radiação causou alterações celulares a partir de 4 horas. Foram observados vacúolos, alterações nucleares, destruição dos grânulos de secreção e de organelas. O grupo selênio apresentou alterações celulares a partir da oitava hora, porém com menor dano em relação àquele causado pela radiação. O grupo selênio/irradiado apresentou menor intensidade nas alterações com início do processo de reparo nas 12 horas após a irradiação e melhor organização com 48 e 72 horas, sem reparação completa neste último tempo avaliado. Apesar das alterações vistas no grupo apenas tratado com selenito de sódio, sua utilização como radioprotetor de glândulas parótidas é válida, por apresentar relação risco/benefício favorável.

Em 2012, Hakim *et al.* estudaram o efeito radioprotetor do cloridrato de lidocaína nas glândulas salivares. Para tanto, coelhos foram separados em grupos e irradiados com 15, 25, 30, e 35 Gy. Cloridrato de lidocaína (10 e 12 mg/kg) foi administrado, antes de cada fração de radiação nos grupos de tratamento. A função da glândula salivar foi avaliada por meio da sialometria e da sialocintilografia, e as mudanças morfológicas foram avaliadas por meio de microscopia eletrônica de transmissão. A limitação funcional foi observada somente depois de 35 Gy, utilizando-se o pré-tratamento com lidocaína. A utilização de 12 mg/kg lidocaína exibiu maior radioproteção, sendo significativa em relação à sialometria e à sialocintilografia. A ultra-estrutura foi largamente preservada após pré-tratamento com ambas as doses de lidocaína. Foi concluído

que a lidocaína representa uma ação radioprotetora eficaz e uma abordagem promissora para a aplicação clínica no combate aos danos da radiação X nas glândulas salivares.

2.4 - Medicamento homeopático

Hughes, em 1991, afirma que a prática moderna da Homeopatia foi evidenciada por volta dos anos de 1800 quando Samuel Hahnemann, médico alemão, testou em si próprio um medicamento utilizado para combater a febre. Diante do experimento, o pesquisador descobriu que quando uma pessoa saudável faz o uso de algum medicamento, em larga escala, a mesma desenvolve os mesmos sintomas que as pessoas acometidas pela doença tratada com o mesmo medicamento. Assim, nascia o princípio da similaridade, considerado uma extensão das observações de Hipócrates. Um mesmo medicamento que levaria um paciente saudável a desenvolver sintomas de doenças, também poderia levar à auto-cura pacientes doentes, desde que o medicamento fosse corretamente manipulado.

Segundo Jonas & Jacobs, em 1996, a palavra "Homeopatia" deriva do grego *omeos*, que significa semelhante, e *pathos*, que significa doença, patologia, enfermidade. O tratamento homeopático utiliza substâncias altamente diluídas para induzir o corpo à auto-cura.

Em 1997, Winterholler *et al.* testaram um medicamento homeopático no tratamento de pacientes portadores de esclerose múltipla. O estudo utilizava outros tratamentos alternativos, além da homeopatia, como a yoga e a dieta alimentar. Por meio da aplicação de um questionário com 129 pacientes, 82 (63,6%) relataram fazer uso de algum tratamento alternativo, e destes a maioria afirmou que apresentou melhoras gerais no quadro clínico.

Klimenko, em 1998 citou que o acidente na Usina Atômica de Chernobyl causou uma catástrofe ecológica sem precedentes e os problemas da ação da radiação no organismo humano apareceram. Segundo o autor, a irradiação levou a ocorrência de reações locais na próstata dos indivíduos expostos. A eficácia de complexos remédios homeopáticos produzidos pela empresa “*Hell*” foi comprovada no tratamento de prostatite crônica desses indivíduos que foram expostos à radiação.

Balzarini *et al.* (2000), realizaram um estudo que teve como objetivo avaliar o efeito da associação Beladona 7 CH e Raios X 15 CH no tratamento de radiodermite aguda. Esse estudo clínico placebo-controlado e duplo-cego utilizou 66 pacientes que tinham sido operados de câncer de pulmão e foram conduzidos para radioterapia. Os seguintes parâmetros foram avaliados em 10 semanas: coloração da pele do peito, temperatura, inchaço e pigmentação. A eficácia do tratamento foi avaliada pela comparação desses parâmetros tomados individualmente e calculando um índice de Severidade Total (soma das pontuações dos quatro parâmetros), durante a radioterapia, e durante a recuperação, 15 e 30 dias após o final da radioterapia. As diferenças dos escores do Índice de Severidade Total durante a radioterapia não foram estatisticamente significativas, mas mostraram uma tendência a uma melhor atividade do medicamento homeopático em comparação com o placebo. A análise dos dados sobre a Severidade Total durante a recuperação mostrou um benefício estatisticamente significativo dos medicamentos ativos sobre o placebo. Os medicamentos homeopáticos tiveram eficácia particular sobre o calor da pele. O número limitado de pacientes observados e a posologia empregada podem ter interferido com o significado dos resultados.

Montfort (2000) associou a homeopatia aos tratamentos convencionais em três tipos de cânceres, um homem com um câncer indiferenciado de pulmão, uma criança um tumor cerebral e uma mulher com leiomiosarcoma. Foram utilizadas substâncias carcinogênicas para formulação da homeopatia em pequenas

concentrações e essas, administradas concomitantemente ao tratamento convencional. Com isso obtiveram completa remissão ou interrupção da progressão da doença em todos os pacientes relatados. O autor concluiu que o tratamento homeopático, utilizando o princípio da similaridade, é promissor.

Segundo D'Huyvetter & Cohrsen, em 2002, o medicamento homeopático tem seu princípio ativo despertado, a partir de uma idéia bastante contraditória, no qual quanto mais a solução for diluída mais eficiente será, respeitando os limites determinados para não perder a eficácia. Outro modo de potencializar a substância é através da sucussão, vigorosa agitação, dinamizando assim o medicamento.

Jonas *et al.* (2003) afirmam que a homeopatia pode ser dividida em duas vertentes: clínica e clássica. A homeopatia clínica é um método em que os tratamentos medicinais prescritos não são associados às características emocionais e psicológicas do paciente, esta forma de tratamento, muitas vezes é considerada análoga à medicina convencional. Já a homeopatia clássica é um método em que um paciente passa por uma avaliação holística, recebendo o medicamento adequado não só às características da doença, mas também emocionais do paciente como um todo. Hahnemann observou ainda que, além de atuar em condições agudas, certos remédios exerceram seus efeitos com base na constituição dos indivíduos, como seu caráter moral e intelectual, seus hábitos, seus relacionamentos, gostos e desgostos, e que os fez se sentir melhor ou pior.

Schlappack (2004) utilizou a homeopatia como tratamento para irritações de pele radioinduzidas, em pacientes que receberam radioterapia local após a cirurgia de carcinoma de mama. Os pacientes foram avaliados através da escala analógica visual, três dias após a primeira dose do tratamento apresentando 56% de remissão, e depois novamente avaliados com uma segunda dose tendo 84% de cura nas alterações dérmicas. O autor pôde concluir que o tratamento de

irritações de pele radioinduzidas com a homeopatia pareceu completamente bem sucedido, sendo indicado para utilização com maior frequência.

Em 2005, Haila *et al.* selecionaram 28 pacientes com xerostomia para participar de um estudo duplo cego, placebo-controlado e longitudinal, avaliando os possíveis efeitos de medicamentos homeopáticos no desconforto oral. Todos os pacientes foram inicialmente divididos em dois grupos de acordo com a sua medicação. Depois disso, os dois grupos foram aleatoriamente designados para o grupo experimental ou de controle. A maioria dos pacientes tinha doença sistêmica, como a artrite reumatóide e/ou síndrome de Sjögren, fazendo o uso de medicação diária. O grupo experimental, selecionado aleatoriamente (n=15), recebeu um remédio homeopático prescrito individualmente e o grupo controle (n=13) uma substância placebo (grânulos de açúcar), ambas durante 6 semanas. A xerostomia foi avaliada e com apenas duas exceções, o grupo experimental apresentou um alívio significativo da xerostomia visto que esse efeito não foi encontrado no grupo de placebo. A taxa de fluxo salivar estimulada foi ligeiramente maior no grupo da homeopatia em relação ao do placebo, mas não ocorreram alterações consistentes na imunoglobulina salivar (IgA, IgG). Os resultados sugeriram que, individualmente prescritos, medicamentos homeopáticos podem ser um valioso complemento para o tratamento de desconforto oral e sintomas xerostômicos.

Mikhvetadze & Nadateishvili (2006) realizaram uma pesquisa cuja meta era revelar o efeito de diferentes agentes no transporte do Ca^{2+} em células tumorais. Radiação ionizante, preparação antitumoral *vin kristin* e preparação homeopática de ácido fosfórico foram usadas. Pequenas doses de radiação (0,5 e 1,0 Gr) sempre tiveram um efeito estimulante no transporte de íon, mesmo em combinação com preparação antitumoral *vin kristin*, que isoladamente sempre diminuiu esta. Ambas, separadamente ou em qualquer combinação, estimuladas pelo ácido fosfórico sempre reforçou o transporte de íons através da membrana.

Sakakura *et al.* (2008) avaliaram a influência do tratamento homeopático com confrei (*Shymphytum officinalis*) na potência 6 CH, na densidade óssea radiográfica e na área em torno de implantes de titânio. Para tanto, 48 ratos machos receberam um micro-implante de titânio em suas tíbias e foram divididos em dois grupos de 24 animais, sendo um grupo controle e um grupo teste (tratado com confrei) que receberam 10 gotas de confrei 6 CH por dia em sua água até o dia do sacrifício. Oito animais de cada grupo foram sacrificados aos 7, 14 e 28 dias pós-cirurgia, respectivamente. Radiografias digitais padronizadas foram obtidas no dia da colocação do implante e no dia do sacrifício. Subtração digital das duas imagens radiográficas foi realizada para avaliar alterações na densidade óssea e na área em torno do implante. Como resultado observou-se que a subtração radiográfica demonstrou diferença significativa nos tons de cinza aos 14 dias após a cirurgia entre os grupos confrei e o grupo controle. Com relação à área em pixels correspondente ao ganho ósseo no grupo tratado com confrei, as diferenças observadas entre os períodos de sacrifício e grupos foram significantes somente aos 7 dias entre o grupo tratado com confrei e o grupo controle. Assim, os autores concluíram que, dentro dos limites do estudo, a administração de confrei promoveu um aumento na densidade óssea radiográfica em torno de implantes de titânio no período inicial da cicatrização óssea.

Banerjee *et al.* (2008) avaliaram a eficácia de um remédio homeopático em duas diferentes potências: O *Arsenicum Album* na 6 CH e 30 CH, para combater a toxicidade do arsênico em ratos. Houve redução em vários parâmetros avaliados, como aberrações cromossômicas e peroxidação lipídica. Já parâmetros como índice mitótico, atividade da glutatona, catalase e succinato desidrogenase aumentaram para ambas as potências. Entretanto o *Arsenicum Album* na 30 CH mostrou-se mais eficaz que na potência 6 CH. Os autores concluem, no entanto, que ambas as potências indicaram potencial de uso contra a toxicidade do arsênio.

Spin-Neto *et al.* (2010) realizaram um estudo no qual avaliaram o efeito da *Symphytum officinale* na potência 6 CH, no torque de remoção e na densidade óssea radiográfica em torno de implantes de titânio inseridos em tíbias de ratos. Após a inserção dos implantes, os animais foram divididos ao acaso em dois grupos experimentais, controle e tratado com *S. officinale*, os quais foram avaliados aos 7, 14, 28 e 56 dias pós-implantação. A densidade óssea radiográfica foi medida em seis pontos em torno do implante, utilizando imagens radiográficas digitais, quando os implantes foram inseridos e quando do sacrifício. O torque de remoção dos implantes também foi avaliado. Tanto o torque de remoção quanto a avaliação da densidade óssea radiográfica mostraram que o tratamento com *S. officinale* 6 CH aumentou a formação óssea em torno dos micro-implantes, principalmente aos 14 dias. Aos 56 dias, a densidade óssea radiográfica foi maior no grupo tratado. Os autores concluíram que a *S. officinale* 6 CH aumentou, principalmente nas fases iniciais da osseointegração, a formação óssea em torno de implantes de titânio em tíbia de ratos, com base nas análises da densidade radiografia e mecânica.

Nery, 2011 verificou o efeito radioprotetor de uma formulação homeopática feita à base de radiação X e outra fitoterápica feita com óleo de copaíba, comparando-as com a vitamina E. Foram utilizados 200 ratos, divididos nos grupos: G1 (controle) que recebeu NaCl e não foi irradiado; G2 (controle irradiado); G3 (vitamina E); G4 (vitamina E irradiado); G5 (homeopatia); G6 (homeopatia irradiado); G7 (copaíba); G8 (copaíba irradiado). Todos os tratamentos foram mantidos por 7 dias e todos os animais dos grupos irradiados foram submetidos à radiação X com dose única de 15 Gy. Após a irradiação, os tratamentos persistiram por mais 7 dias e após o período de 12h, 3, 10, 17 e 24 dias da irradiação, os animais foram anestesiados e sofreram estimulação salivar por pilocarpina. Após 30 minutos de coleta salivar, os animais foram sacrificados. Foram observados os efeitos destas substâncias sobre a função salivar e a morfologia da glândula parótida desses animais. A análise histomorfológica das

glândulas mostrou um aumento da desorganização estrutural nos animais irradiados. Quanto à produção salivar, nenhum dos tratamentos interferiu de maneira significativa a salivação dos animais. O trabalho concluiu que essas substâncias não possuem comportamento radioprotetor nas glândulas parótidas.

De *et al.* (2012) avaliaram se a droga homeopática *Arsenicum Album* 30C (Ars Alb 30C) seria capaz de reduzir a toxicidade induzida pelo arsênio na *Escherichia coli*. Assim, foi realizada uma cultura da bactéria que posteriormente foram tratadas com 1 ou 2 mmol/L de arsênio somente (controle); ou Ars Alb 30C foi adicionado ao meio de bactéria tratada com arsênio (droga-tratado); ou álcool agitado homeopaticamente foi adicionado ao meio contendo a bactéria tratada com arsênio (placebo-tratado). As bactérias não tratadas serviram como controle negativo. Os autores concluíram que a administração da Ars Alb 30C reduziu a toxicidade do arsênio na *Escherichia coli*, inibindo a geração de espécies oxigênio reativas e aumentando a tolerância à toxicidade do arsênio e crescimento celular.

Das *et al.* (2012) avaliaram a capacidade da solução homeopática Arnica Montana 30C (AM-30C), utilizada no tratamento de choque e lesões, de modular a expressão dos genes de reparação de excisão de nucleótidos, em *Escherichia coli* expostas à irradiação ultravioleta (UV). Para tanto, uma cultura de *Escherichia coli* foi exposta a doses sub-letais de radiação (UV) a 25 e 50 J/m por 22,5 e 45 segundos, respectivamente. As bactérias expostas á radiação UV foram então suplementadas com a droga AM-30C ou com placebo. Ambas as culturas foram submetidas ao ensaio para danos do DNA e estresse oxidativo por 90 minutos após a exposição á radiação. Os resultados indicaram que a bactéria exposta á radiação UV mostrou danos no DNA e estresse oxidativo, revelado por um aumento na geração de espécies oxigênio reativas intracelulares, e nas atividades da catalase e glutathione. Quando comparada ao placebo, a bactéria tratada com AM-30C apresentou menos dano ao DNA e menos estresse oxidativo,

manifestado pela diminuição na geração de espécies oxigênio reativa e um aumento na atividade da superóxido dismutase, catalase e glutathione. O AM-30C também aumentou a regulação da expressão dos genes de reparação quando comparada ao grupo controle. Os autores concluíram que a AM-30C ajudou a reparar o dano ao DNA através do aumento da regulação de genes de reparação e também melhorou o estresse oxidativo através da redução da formação de espécies oxigênio reativas e modulação adequada de enzimas anti-oxidantes do estresse.

Em 2012, Eizayaga & Eizayaga estudaram a eficácia do medicamento homeopático em pacientes portadores de dermatite atópica. A amostra consistiu de 26 pacientes que foram submetidos a uma consulta inicial e outra final, na qual foi constatado que o medicamento homeopático sugeriu uma melhora no quadro geral dos pacientes acometidos pela dermatite atópica.

No mesmo ano de 2012, Danno *et al.* avaliaram a eficácia na prevenção e tratamento de enxaquecas em pacientes infantis que estavam com a vida escolar prejudicada. O estudo foi realizado em 12 países e controlado por 59 médicos homeopatas. Foram selecionadas 168 crianças, com idades entre 5-15 anos, com quadros definitivos ou prováveis de enxaqueca. Os médicos prescreveram os medicamentos homeopáticos de forma individualizada, de acordo com as características vistas e relatadas pelos pacientes ou responsáveis, através de questionários. Como resultado, os pesquisadores constataram que a frequência, gravidade e duração das crises de enxaqueca diminuíram significativamente durante o período de três meses de acompanhamento.

3. PROPOSIÇÃO

O presente trabalho teve como proposição avaliar o efeito de uma solução homeopática sobre a função salivar e sobre a morfologia das glândulas parótidas de ratos submetidos a uma dose de 15 Gray de radiação X.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Animais

O presente estudo foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biologia/UNICAMP e aprovado sob número 2674-1.

Foram utilizados 150 ratos machos, adultos (*Rattus norvegicus albinus*, *Wistar*) com 6 a 10 semanas de vida, com peso entre 200 a 250g, procedentes do Biotério Central da UNICAMP. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas e passaram uma semana de adaptação ambiental após o transporte, antes do início do experimento. Foram mantidos em regime de água e alimentação *ad libitum*, à temperatura média de 23°C e iluminação artificial com lâmpadas fluorescentes, sendo fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando o período de luz das 7 às 19 horas.

4.2 – Fármacos

Foram utilizadas: solução hidroalcoólica (álcool 30%) irradiada com 15 Gy e dinamizada em 15 CH (Gerson E. Cecon - Farmácia de Manipulação, Limeira, SP), solução hidroalcoólica (álcool 30%) dinamizada em 15 CH (Figura 1), solução salina (cloreto de sódio – NaCl a 0,9%) estéril, anestésico quetamina (100mg/mL), relaxante muscular xilasina (100mg/mL), solução de pentobarbital sódico (30mg/kg) e cloreto de pilocarpina (Sigma Chemical Co., St Louis, MO).



Figura 1 – Solução hidroalcoólica irradiada com 15 Gy e dinamizada em 15 CH (à esquerda) e solução hidroalcoólica dinamizada em 15 CH (à direita).

4.3 – Grupos experimentais

Os animais foram divididos aleatoriamente em 6 grupos de 25 animais:

- Grupo 1 (controle): os animais receberam solução salina (via oral).
- Grupo 2 (controle irradiado): os animais receberam solução salina (via oral), foram anestesiados e submetidos à irradiação, dose única de 15 Gy, como descrito posteriormente no item “Irradiação”.
- Grupo 3 (álcool): os animais receberam solução hidroalcoólica dinamizada em 15 CH (via oral).
- Grupo 4 (álcool irradiado): os animais receberam solução hidroalcoólica dinamizada em 15 CH (via oral), foram anestesiados e submetidos à irradiação, dose única de 15 Gy, como descrito no item “Irradiação”.

- Grupo 5 (homeopatia): os animais receberam 0,25 ml (aproximadamente 1ml/kg) da solução hidroalcoólica irradiada com 15 Gy e dinamizada em 15 CH (via oral).
- Grupo 6 (homeopatia irradiado): os animais receberam 0,25 ml (aproximadamente 1ml/kg) da solução hidroalcoólica irradiada com 15 Gy e dinamizada em 15 CH (via oral), foram anestesiados e submetidos à irradiação, dose única de 15 Gy como descrito no item “Irradiação”.

Todos os animais que não sofreram irradiação foram submetidos à anestesia e levados ao acelerador linear, para que assim, fosse simulado um ambiente de stress para os mesmos.

Cada grupo foi subdividido em cinco diferentes tempos de sacrifício: 12 horas, 3, 10, 17 e 24 dias.

Toda administração de substâncias foi iniciada sete dias antes do procedimento de irradiação e continuou por mais sete dias após este procedimento (Figura 2).



Figura 2 – Administração, via oral, das soluções nos animais.

4.4 – Irradiação

Sete dias após o início dos tratamentos, todos os animais foram anestesiados, via intramuscular com 1,0ml/kg de peso corpóreo de solução de Cloridrato de Ketamina (Dopalen®, Agribands do Brasil Ltda., Paulínea, SP, Brasil) e, 0,15ml/kg de peso corpóreo de solução de Cloridrato de Xilasina (Rompun®, Bayer S.A., São Paulo, SP, Brasil). Os animais dos grupos controle irradiado, álcool irradiado e homeopatia irradiado foram posicionados no acelerador linear (Clinic 6/100®, Varian, Hospital dos Fornecedores de Cana de Piracicaba) (Figura 3) e a colimação do aparelho foi regulada de forma a irradiar uma região de 18 x 30 cm, estando a cabeça e o pescoço dos animais no campo irradiado (Figura 4), assim, pela colimação, todo o restante do corpo ficou protegido. Os animais foram posicionados a uma distância focal de 100 cm e submetidos a uma dose única efetiva de 15 Gy de radiação X.



Figura 3 – Acelerador linear (Clinic 6/100®, Varian, Hospital dos Fornecedores de Cana de Piracicaba) utilizado para irradiação dos animais.

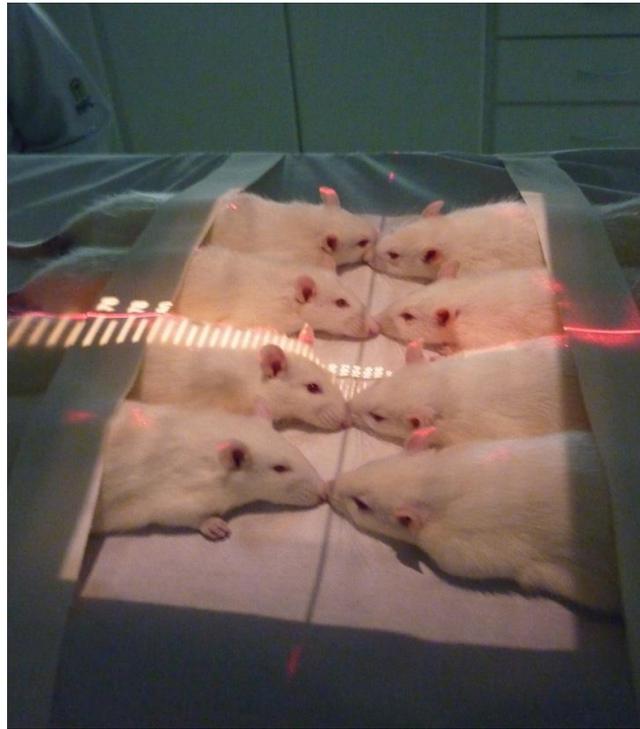


Figura 4 – Posicionamento dos animais a 100 cm e colimação da área irradiada.

4.5 – Sialometria

Decorridos 12 horas, 3, 10, 17 e 24 dias da irradiação, todos os animais foram novamente anestesiados com uma solução de pentobarbital sódico 30mg/kg, por via intraperitoneal. A salivação foi estimulada com pilocarpina (Sigma Chemical Co., St Louis, MO - 4 mg/kg) e, após a *lag phase* (tempo necessário para o início da salivação após a administração da pilocarpina), foi realizada a sialometria durante 30 minutos para avaliação da função salivar. O volume da saliva secretada foi estimado pelo peso, supondo que a gravidade específica da saliva é 1.0 g/cm³. (Figura 5).



Figura 5 – Coleta de saliva dos animais.

4.6 – Sacrifício dos animais

Os animais de cada grupo, divididos em cinco subgrupos de cinco animais cada, foram sacrificados por aprofundamento da anestesia, após 12 horas, 3, 10, 17 e 24 dias pós-irradiação. As glândulas parótidas foram removidas (Figura 6) e imediatamente colocadas na solução fixadora.

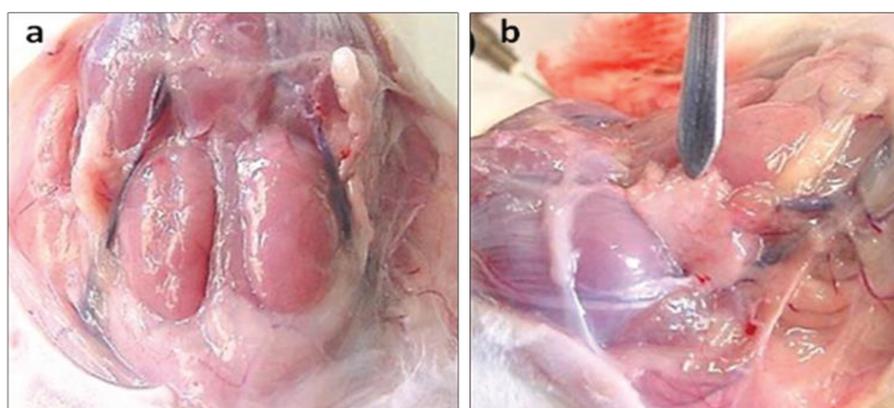


Figura 6 – Sequência da dissecação das glândulas salivares. a) rebatimento da pele na região ventral do pescoço; b) localização da glândula parótida
Fonte: Adaptado de Nery, 2011.

A fixação foi feita por solução de formol a 10% tamponado (pH 7,2) em tampão fosfato de sódio a 0,1M, durante pelo menos 72 horas. Vale lembrar que quando ocorria óbito antes do período previsto, os animais eram descartados da amostra.

4.7 – Processamento histológico do material para microscopia de luz

As peças removidas foram lavadas em água destilada, desidratadas em etanol a 70%, 95% e 100%, diafanizadas em xilol, embebidas e incluídas em parafina a 65°C, em sentido longitudinal. Três cortes semi-seriados com espessura de 6 µm foram realizados em micrótomo manual (Leica, RM 2145) com intervalo de 10 cortes entre eles e foram colhidos em 5 lâminas histológicas, que foram desparafinizados, hidratados e corados por Hematoxilina-Eosina para posterior análise (Michalani, 1980).

4.8 – Fotomicroscopia

Depois de confeccionadas as 5 lâminas, foram selecionadas 3 lâminas com profundidades de cortes diferentes; um inicial, um médio e um final. Selecionado o corte central de cada lâmina, foram realizadas 3 fotomicrografias do mesmo corte histológico, sendo 2 de regiões periféricas e 1 da região central, por meio do fotomicroscópio Leica DM LP (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), empregando-se objetiva de 20 vezes com iluminação convencional.

4.9 – Análise Morfométrica

Utilizando-se o programa Image-Pro Plus 4.5 (*Media Cybernetics, Silver Spring, USA*) (Figura 7) , foi confeccionada uma grade individualizada e calibrada

de acordo com a objetiva utilizada na aquisição das fotomicrografias (Figura 8). A grade (480 x 360 μm) possuía uma área de 172.800 μm^2 , contendo 99 pontos de intersecção, excluindo as bordas da grade, que serviram de referencial para a contagem das estruturas presentes em cada imagem. Foram assim obtidos os valores numéricos das intersecções que continham ácinos ou ductos. Foi realizada também a relação de proporção entre o número de ácinos e o número de ductos pertencentes à cada imagem (Figura 9). Os valores foram tabulados no programa (*Microsoft Excel 2010 for Windows*) para posterior análise estatística. Foram utilizados os testes: Levene para avaliar a homogeneidade de variâncias; Shapiro-Wilk para análise da distribuição dos dados; Kruskal-Wallis e Student-Newman-Keuls para a contagem de células entre os grupos; Friedman para a contagem de células entre os tempos; Two-way ANOVA e Tukey para análise sialométrica; considerando um nível de significância de 5%, utilizando o software BioEstat versão 5.0.

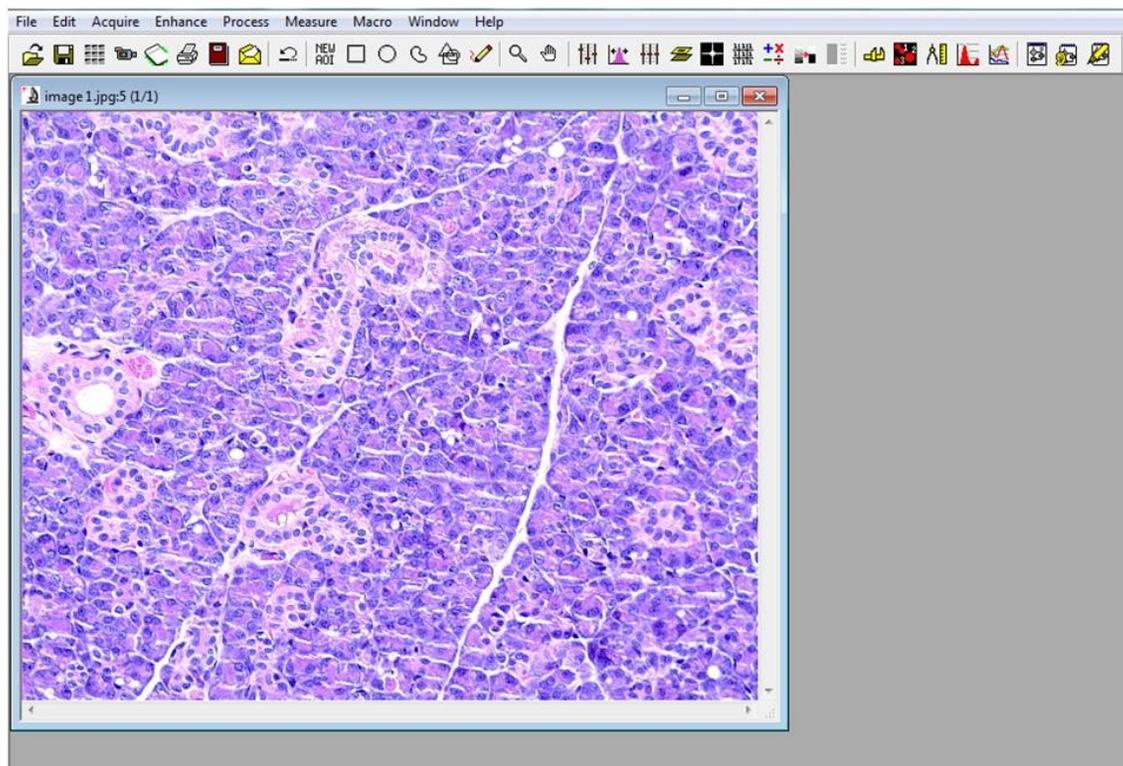


Figura 7 – Visualização do corte histológico no programa Image-Pro Plus 4.5.

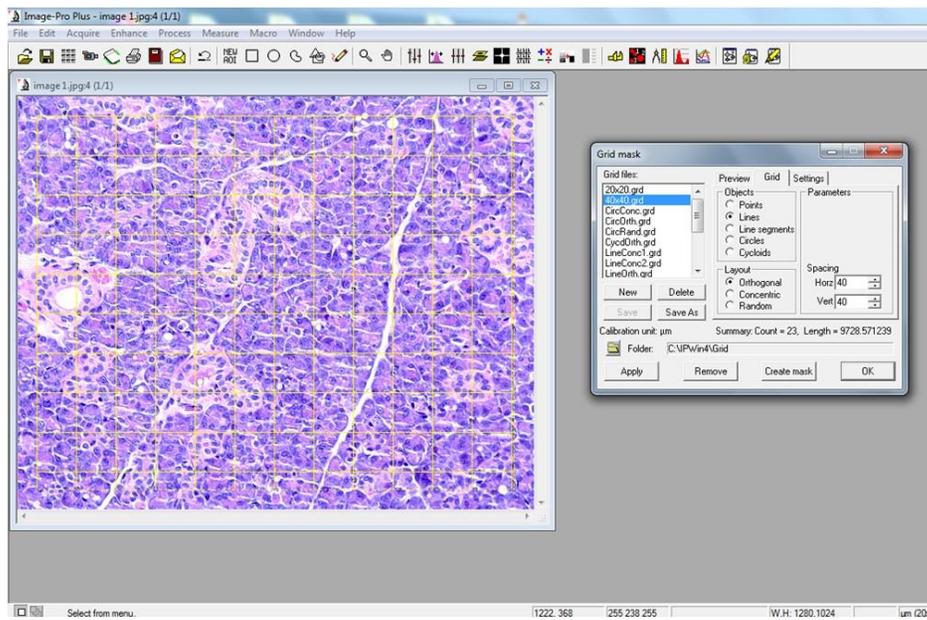


Figura 8 – Sobreposição da grade na imagem do corte histológico.

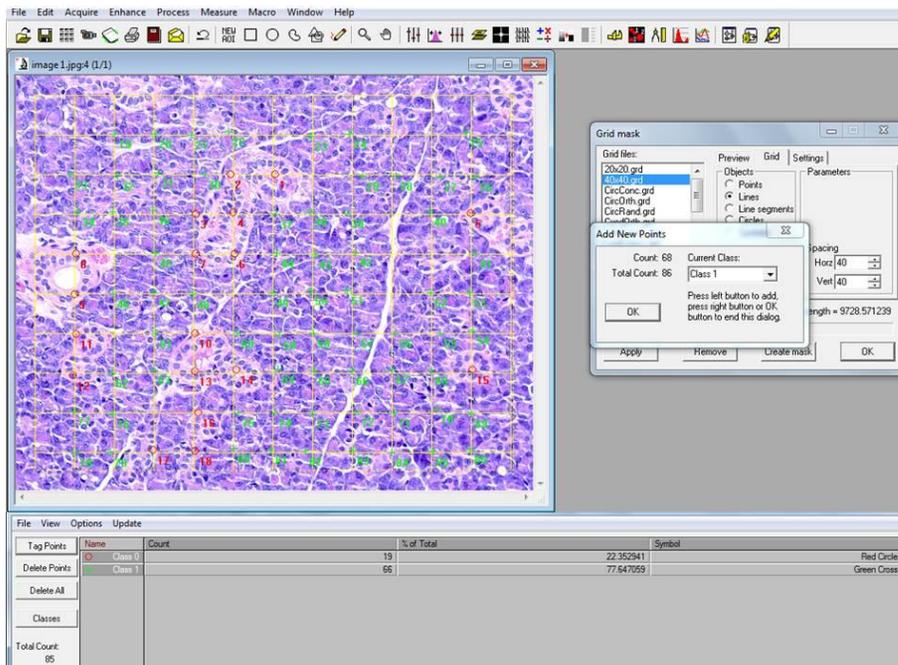


Figura 9 – Contagem dos ácinos e ductos presentes na imagem com apresentação dos resultados de números e porcentagens.

5. RESULTADOS

5.1 – Análise da função salivar (sialometria)

A Tabela 1 mostra a análise estatística para os valores de sialometria. A Figura 1 expõe a medida da sialometria ao longo do tempo, em função dos grupos e da irradiação aos animais.

Tabela 1 - Comparação entre os tempos considerando um mesmo grupo (letras maiúsculas, horizontal) e entre os grupos considerando um mesmo tempo (letras minúsculas, vertical) para a sialometria.

		12horas	3dias	10dias	17dias	24 dias
Não Irradiados	Controle	A,a	A,a	A,a	B,a	A,a
	Álcool	A,a	B,a	B,a	A,a	A,b
	Homeopatia	AC,a	C,a	A,a	B,a	A,ab
Irradiados	Controle	A,a	A,a	A,a	A,a	A,a
	Álcool	A,a	A,a	A,a	A,a	A,a
	Homeopatia	A,a	B,a	A,a	A,b	B,a

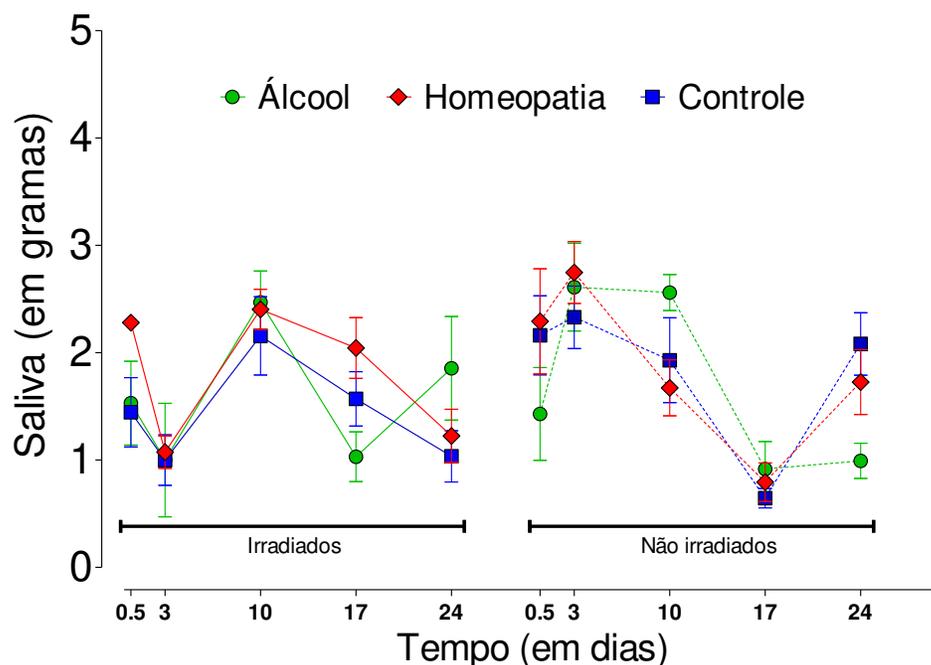


Figura 1 - Média (\pm erro padrão) da sialometria em função dos grupos e períodos estudados.

Conforme a Tabela 1, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes (ANOVA, $p > 0,05$) entre os grupos em nenhum dos períodos isoladamente, exceto para o período de 17 dias, no qual os animais irradiados e tratados com a formulação homeopática mostraram maior salivagem do que os demais grupos na mesma condição. Nos animais não irradiados, o grupo tratado com álcool mostrou redução ($p < 0,05$) significativa da sialometria às 12 horas e aos 24 dias.

A Tabela 2 mostra a análise estatística para os valores de *lag phase*. A Figura 2 exibe a medida da mesma ao longo do tempo, em função dos grupos e da irradiação aos animais.

Tabela 2 - Comparação entre tempos considerando um mesmo grupo (letras maiúsculas, horizontal) e entre os grupos considerando um mesmo tempo (letras minúsculas, vertical) para a lag phase.

		12horas	3dias	10dias	17dias	24 dias
Não Irradiados	Controle	A,a	A,a	A,a	A,a	A,a
	Álcool	A,a	A,b	A,a	A,a	A,a
	Homeopatia	A,a	A,a	A,a	A,a	A,a
Irradiados	Controle	A,a	A,a	A,a	A,a	A,a
	Álcool	A,ab	A,a	A,a	A,a	A,a
	Homeopatia	A,b	A,a	A,a	A,a	A,a

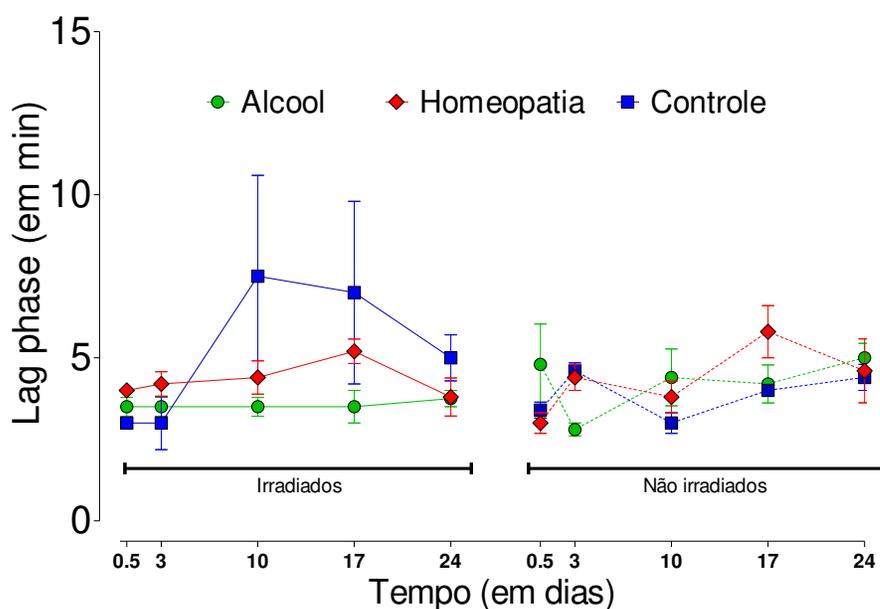


Figura 2 - Média (\pm erro padrão) da lag phase em função dos grupos e períodos estudados.

Como pode ser observado pela Tabela 2, não houve diferenças estatisticamente significantes (Friedman, $p > 0,05$) nos valores de *lag phase* entre os períodos de tempo, tanto nos animais irradiados quanto naqueles não irradiados, ou seja, os tratamentos não sofreram influência do tempo.

Considerando a comparação entre os grupos em cada período de tempo isoladamente, os animais não irradiados e tratados com o álcool, aos 3 dias, tiveram diminuição da *lag phase* em comparação com os demais grupos.

5.2 – Análise quantitativa da proporção entre o número de ácidos e ductos

A Tabela 3 mostra a análise estatística para a proporção entre ácidos e ductos. A Figura 3 mostra essa medida ao longo do tempo, em função dos grupos e da irradiação aos animais.

Tabela 3 - Comparação entre tempos considerando um mesmo grupo (letras maiúsculas, horizontal) e entre os grupos considerando um mesmo tempo (letras minúsculas, vertical) para a proporção entre ácidos e ductos.

		12horas	3dias	10dias	17dias	24 dias
Não Irradiados	Controle	A,a	A,a	A,a	A,ab	A,a
	Álcool	A,a	A,a	A,ab	A,a	A,a
	Homeopatia	A,a	B,a	AB,ab	B,a	B,a
Irradiados	Controle	A,a	A,a	A,b	A,b	A,b
	Álcool	A,a	A,a	AB,b	AB,b	B,b
	Homeopatia	A,a	A,a	A,b	A,b	A,ab

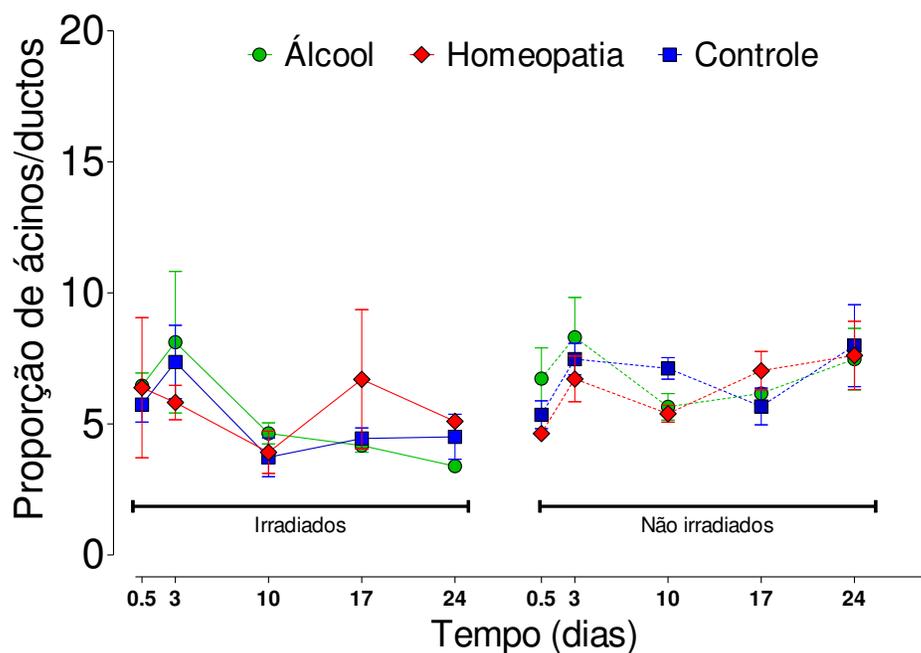


Figura 3 - Média (\pm erro padrão) da proporção ácinos e ductos em função dos grupos e períodos estudados.

A análise das proporções de ácinos e ductos (Tabela 3) revelou que não houve diferença estatisticamente significativa (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$) entre os grupos considerando um mesmo período, exceto para os animais que foram submetidos ao tratamento com álcool e foram irradiados, os quais mostraram menores proporções em relação aos animais não irradiados nos períodos de 17 dias (Kruskal-Wallis, $p = 0,0219$) e 24 dias (Kruskal-Wallis, $p = 0,0041$). Além disso, a comparação entre os períodos de estudo, considerando um mesmo grupo, revelou que houve diminuição progressiva e significativa (teste de Friedman, $p = 0,0078$) da proporção de ácinos e ductos a partir dos 10 dias naqueles animais tratados com álcool e irradiação. Nos animais tratados com homeopatia, mas não irradiados, verificou-se um aumento (Kruskal-Wallis, $p = 0,0181$) da proporção após 12 horas, sendo que a proporção se manteve até 24 dias.

5.3 – Análise quantitativa do número de ácinos e ductos

Para observar como a proporção de ácinos e ductos foi afetada, foram analisados separadamente o número de ductos e ácinos.

A Figura 4 mostra o número de ductos e ácinos em função dos grupos e períodos estudados. As tabelas 4 e 5 mostram, separadamente, a análise estatística de ácinos e ductos respectivamente.

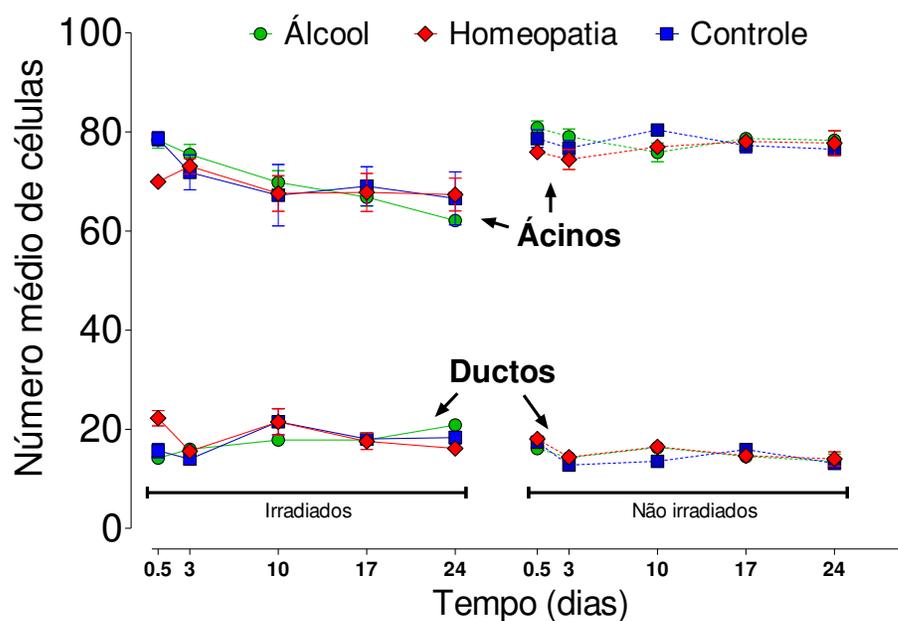


Figura 4 - Média (\pm erro padrão) do número de ácinos e ductos em função dos grupos e períodos estudados.

Tabela 4 - Comparação entre tempos considerando um mesmo grupo (letras maiúsculas, horizontal) e entre os grupos considerando um mesmo tempo (letras minúsculas, vertical) para o número de ácidos.

		12horas	3dias	10dias	17dias	24 dias
Não Irradiados	Controle	A,a	A,a	A,a	A,a	A,a
	Álcool	A,a	A,a	A,b	A,a	A,a
	Homeopatia	A,ab	A,a	A,a	A,a	A,a
Irradiados	Controle	A,a	A,a	A,a	A,b	A,b
	Álcool	A,a	AB,a	ABC,a	BC,b	C,b
	Homeopatia	A,b	A,a	A,a	A,b	A,b

A análise dos dados (Kruskal-Wallis), mostrados na Figura 4 e Tabela 4, revelou que no período de 12 horas, a homeopatia apresentou menor número ($p < 0,05$) de ácidos do que o controle e o álcool nos animais irradiados, sendo que houve tendência de menor número de ácidos para os animais irradiados, independentemente do grupo em estudo.

A análise dos valores obtidos em função do tempo, considerando cada grupo separadamente, mostrou que não houve diferenças estatisticamente significantes (Friedman, $p > 0,05$) entre os períodos de tempo em todas as condições (irradiados e não irradiados) e em todos os grupos (álcool, homeopatia e controle), exceto para o grupo de animais que recebeu álcool e foi irradiado. Esses animais apresentaram uma tendência (Friedman, $p = 0.0055$) de diminuição do número de ácidos ao longo do tempo. Já os animais que receberam homeopatia ou o controle e foram irradiados, não mostraram diferenças estatisticamente significantes ao longo do tempo, sugerindo que o tratamento homeopático pode ter diminuído o efeito do álcool sobre o número de ácidos.

Tabela 5 - Comparação entre tempos considerando um mesmo grupo (letras maiúsculas, horizontal) e entre os grupos considerando um mesmo tempo (letras minúsculas, vertical) para o número de ductos.

		12horas	3dias	10dias	17dias	24 dias
Não Irradiados	Controle	A,a	B,a	BC,a	AC,a	B,a
	Álcool	A,a	A,a	A,b	A,a	A,a
	Homeopatia	A,ab	A,a	A,a	A,a	A,a
Irradiados	Controle	A,a	A,a	A,a	A,b	A,b
	Álcool	A,a	AB,a	BC,a	BC,b	C,b
	Homeopatia	A,b	B,a	A,a	AB,b	B,b

A análise dos dados (Kruskal-Wallis) revelou que houve mais ductos ($p < 0,05$) às 12 horas no grupo homeopatia do que nos demais grupos. Nos demais períodos, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Houve um aumento progressivo (Friedman, $p = 0.0132$) do número de ductos ao longo do tempo nos animais que receberam álcool e foram irradiados. Nos animais controle irradiados, não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0.0666$) ao longo do tempo, mas houve diminuição progressiva ($p = 0.0256$) do número de ductos nos animais que receberam a homeopatia. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os períodos de tempo nos animais não irradiados, independentemente do grupo, exceto para o grupo controle que apresentou aumento do número de ductos nos períodos de 3 e 10 dias.

6. DISCUSSÃO

A radiação ionizante, quando aplicada na região de cabeça e pescoço, pode ocasionar hemorragia, processos infecciosos, exacerbação de infecções preexistentes, mucosites, lesão cariosa de radiação, interrupção no desenvolvimento dentário e diminuição do fluxo salivar (Albuquerque *et al.*, 2007). Os efeitos agudos e tardios da irradiação nas glândulas salivares são observados dependendo da dose e do tipo de exposição (Nagler *et al.*, 1993b, 1998; Leslie & Dische, 1994). Como as glândulas salivares são incluídas frequentemente no campo da radioterapia para o tratamento de tumores da região de cabeça e pescoço, sua função é rapidamente danificada (Nagler *et al.*, 1993a). Justifica-se assim, a importância de estudos de substâncias que possam ter uma função radioprotetora para essas estruturas.

A presente pesquisa foi baseada na utilização do modelo animal, visto a similaridade histológica, fisiológica, secretória e do fluxo salivar em relação às glândulas salivares humanas, como atestada por Nagler (2002) e Cheyne (1939). Na metodologia, foi utilizada uma única dose de 15 Gy, amplamente empregada em outros estudos como Nagler *et al.* (1993a, 1993b, 1998); Coppes *et al.* (2001, 2002); Shan *et al.* (2006); Boraks *et al.* (2008); Tuji *et al.* (2010); Hakim *et al.* (2012). Tal dose é suficientemente danosa às glândulas salivares, como comprovado por Vissink *et al.* (1990) e, dessa forma, escolhida no presente estudo, visando provocar deliberadamente dano nas estruturas, bem como compreender os efeitos exercidos pelo fármaco utilizado.

O decréscimo na quantidade de saliva acarreta uma significativa mudança na qualidade de vida, visto que a mesma possui funções importantes para o organismo (Schneyer & Schneyer, 1967). Diante disso, diversos autores como Mossman *et al.* (1981); Vissink *et al.* (1990); Nagler *et al.* (1993a); Nagler *et al.* (1993b); Leslie & Dische (1994); Nagler *et al.* (1998); Coppes *et al.* (2002); Shan *et al.* (2006) e Boraks *et al.* (2008) avaliaram o comportamento das glândulas

salivares frente a um tratamento radioterápico, verificando o efeito nocivo da radiação. Corroborando com todos os estudos citados anteriormente, esta pesquisa evidenciou uma menor taxa de salivação (medida em gramas) nos animais que receberam irradiação, quando comparados aos animais que não foram submetidos à irradiação nos tempos de 12 horas, 3 e 24 dias. Nery (2011), utilizando a mesma metodologia do presente trabalho, encontrou também maior secreção salivar nos animais do grupo controle não irradiado em relação aos animais irradiados do mesmo grupo nos períodos de 10, 17 e 24 dias.

Estudos (Nagler *et al.*, 1993a,b, 1996, 1998) demonstram que no período de 3 a 14 dias após a irradiação pode-se notar redução significativa do fluxo salivar, concordando com os resultados desta pesquisa, na qual 3 dias após a irradiação foi observada a maior redução no volume salivar produzido. Após 10 dias, teve-se um aumento da salivação independente da medicação utilizada, demonstrando a regeneração das glândulas salivares que se inicia na segunda semana após a exposição à radiação. Passados 17 dias observou-se uma discreta diminuição no fluxo salivar dos animais irradiados que pode ser explicada pelo efeito secundário da radiação nos tecidos, tal como sugere Nagler (2002).

A *lag phase* (o intervalo de tempo entre a injeção da pilocarpina e o início da secreção) não apresentou diferenças estatísticas comparando-se o tempo dentro do mesmo grupo, discordando dos resultados de Vissink *et al.* (1990) que encontraram alteração significativa da *lag phase* aos 3 dias após a irradiação dos animais. Discorda-se também dos achados de Coppes *et al.* (1990), em que foi observado o aumento do tempo de salivação dos ratos após 1, 3, 6, 10 e 30 dias da irradiação. Todavia, Nery (2011), de acordo com seu trabalho, mostrou que a *lag phase* dos animais irradiados e não irradiados não apresentaram diferenças estatisticamente significantes em nenhum dos períodos de estudo dos grupos controle e homeopatia.

A glândula parótida apresenta uma maior radiosensibilidade e um maior índice de acometimento, quando comparada às outras glândulas, segundo Nagler

et al. (1998) e Coppes *et al.* (2002), assim, justificando a escolha dessa glândula nesta pesquisa. O motivo pela maior radiosensibilidade e acometimento da glândula parótida, ainda não é muito bem elucidado, porém Boraks *et al.*, em 2008 sugeriram que isso pode ser explicado pela constituição da glândula, visto que a mesma é formada por 80% de células serosas, que possuem maior sensibilidade à radiação, diferentemente das outras glândulas salivares maiores, formadas de forma quase equitativa de componentes serosos e mucosos.

Diante da maior radiosensibilidade da glândula parótida, este trabalho analisou os seus principais constituintes, os ácinos e ductos, em animais expostos à radiação e que foram tratados com homeopatia. Através de uma análise morfométrica, por meio de uma contagem do número dessas estruturas, foi observado que, independentemente do tempo de sacrifício e medicação recebida, o número de ácinos diminuiu significativamente com a radioterapia quando comparado aos animais do grupo não irradiado. Já para contagem de ductos, não foi observada diminuição nem aumento significativo em nenhum grupo. Tais resultados atestam as diferentes respostas das estruturas das glândulas parótidas frente à radiação, assim como relatado por Anderson *et al.* (1981), que afirmaram que as mudanças estruturais nas glândulas salivares decorrentes da radiação ionizante variam de acordo com a região.

Os ácinos apresentaram uma maior radiosensibilidade, sendo, portanto a parte mais susceptível da estrutura glandular, enquanto que os ductos estriados e convolutos evidenciaram uma radiosensibilidade intermediária. Por outro lado, os ductos externos e extra lobulares apresentaram-se radiorresistentes. Tal achado corrobora com o estudo de Boraks *et al.*, em 2008, no qual foi concluído que a radiação ionizante promove alterações relevantes no parênquima glandular.

Nesse trabalho foi observada uma tendência de diminuição do número de células acinares, sendo o grupo dos animais irradiados, os mais acometidos pela redução celular, bem como observado por Shan *et al.* (2006).

Com o intuito de minimizar os efeitos deletérios da radiação aos tecidos saudáveis adjacentes à lesão, o desenvolvimento de substâncias radioprotetoras efetivas adquiriu grande importância e tem sido objeto de estudo (Arora *et al.*, 2005). Muitos são os estudos que visam encontrar substâncias realmente efetivas no combate aos efeitos nocivos da radiação, dentre elas, óleo à base de alho (Gupta, 1996); íons metálicos de ferro e cobre (Nagler *et al.*, 1997); fenilefrina, isoproterenol, pilocarpina e metacolina (Coppes *et al.*, 2001); cafeína (Kim *et al.*, 2003); vitamina E (Manzi *et al.*, 2003, Ramos, 2006); selenito de sódio (Tuji *et al.*, 2010); e cloridrato de lidocaína (Hakim *et al.*, 2012).

No entanto, os radioprotetores disponíveis na atualidade não preenchem os requisitos da idealidade e segurança, daí a busca incessante de fontes alternativas na literatura por décadas. (Arora *et al.*, 2005). Ainda nesta tentativa, este trabalho lançou mão de um medicamento homeopático, visto que esse tipo de medicamento vem sendo utilizado em muitos tratamentos de enfermidades de maneira bastante efetiva, seja combatendo a doença propriamente dita ou os efeitos por ela causados. Diversos estudos comprovam a eficácia da homeopatia, como no tratamento da esclerose múltipla (Winterholler *et al.*, 1997); prostatite crônica decorrente da radiação (Klimenko, 1998); radiodermatite aguda (Balzarini *et al.*, 2000, Schlappack, 2004); lesão cancerígena (Montfort, 2000, Mikhvetadze & Nadateishvili, 2006); xerostomia (Haila *et al.*, 2005), cicatrização óssea (Sakakura *et al.*, 2008, Spin-Neto *et al.*, 2010); toxicidade do arsênico (Banerjee *et al.*, 2008, De *et al.*, 2012); dano ao DNA e estresse oxidativo (Das *et al.*, 2012); dermatite atópica (Eizayaga & Eizayaga, 2012) e enxaqueca (Danno *et al.*, 2012).

Na presente pesquisa, apesar de obterem-se volumes salivares maiores nos grupos homeopatia, na maioria dos tempos de sacrifício, apenas aos 17 dias foi observada diferença estatisticamente significativa entre o grupo homeopatia irradiado e os demais grupos irradiados do estudo, sugerindo um efeito radioprotetor tardio da homeopatia nas glândulas salivares. Concordando-se, assim, com os achados de Haila *et al.* (2005), quando atestam aumento da função

glandular com melhora significativa nos casos de xerostomia de pacientes sindrômicos submetidos ao tratamento homeopático. Contudo, diferindo do resultado encontrado no trabalho de Nery (2011), em que o autor pesquisou a ação radioprotetora da vitamina E, de uma solução homeopática e de um óleo à base de copaíba também em glândulas salivares de ratos irradiados, observando que, de uma maneira geral, independentemente do tratamento, não houve mudança na produção salivar dos animais irradiados e não irradiados.

Quando avaliado o efeito da homeopatia por análise morfométrica, foram observadas diferenças estatisticamente significantes em relação ao número de ácinos nos animais irradiados do grupo álcool, que apresentaram tendência de diminuição ao longo do tempo. Enquanto, nos animais do grupo controle e homeopatia não houve diferença significativa. Sugerindo-se assim, uma diminuição do efeito nocivo do álcool pela medicação homeopática, visto que o veículo do medicamento homeopático trata-se de álcool na mesma concentração da substância administrada aos animais do grupo álcool, tal resultado pode sugerir um efeito radioprotetor da homeopatia frente aos ácinos glandulares.

Ainda analisando morfometricamente as glândulas parótidas dos animais submetidos à irradiação, o tratamento homeopático não apresentou diferença estatisticamente significativa quanto ao número de ductos, situação encontrada também no grupo controle. Entretanto, diferindo significativamente, os animais do grupo álcool apresentaram um aumento progressivo do número de ductos, em contrapartida houve diminuição progressiva do número de ductos nos animais que receberam a homeopatia. Uma possível explicação para esse fato é a maior radiosensibilidade dos ácinos que, quando destruídos do padrão lobular, os espaços lacunares deixados por tais estruturas tendem a ser ocupados por ductos já existentes, contabilizando-se mais ductos por meio das grades idealizadas na metodologia deste trabalho.

A diferença de interação das estruturas frente à radiação X foi também observada nos trabalhos de Anderson *et al.* (1981), Roslindo *et al.* (1989), em que afirmam, que os ácinos apresentaram uma maior radiosensibilidade, sendo, portanto a parte mais sensível da estrutura glandular, enquanto que os ductos estriados, convolutos, externos e extra lobulares mostraram uma radiosensibilidade intermediária ou radiorresistentes.

Um maior número de ductos nos animais do grupo álcool irradiado, quando comparado aos animais dos outros grupos também submetidos ao tratamento radioterápico, pode causar certo estranhamento, porém esse aumento de ductos não se converte numa maior taxa de salivação, visto que tais estruturas não são responsáveis pela produção salivar, funcionam somente como meios condutores da excreção de saliva, como afirma o trabalho de Anderson *et al.* (1981).

Apesar da comprovada ação terapêutica da homeopatia no tratamento de paciente submetidos à radiação X e da sugestão de um efeito radioprotetor no presente trabalho, outros estudos ainda devem ser realizados para a comprovação do medicamento como radioprotetor, para assim ser usado de forma segura e realmente eficaz, contribuindo para a qualidade de vida dos pacientes que lançam mão de tal substância.

7. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos e dentro das condições experimentais utilizadas, pôde-se concluir que:

1. Analisando a função salivar, considerando o grupo de animais irradiados, pôde-se observar uma eficácia no tratamento homeopático aos 17 dias, sugerindo um efeito radioprotetor tardio da solução homeopática.
2. Em relação à morfologia da glândula parótida em animais irradiados, observou-se que o número de ácinos apresentou uma tendência de diminuição significativa no grupo álcool, diferentemente dos grupos controle e homeopatia, sugerindo um efeito protetor da solução homeopática nas células acinares.

8. REFERÊNCIAS

1. Albuquerque RA, Morais VVL, Sobral APV. Protocolo de atendimento odontológico a pacientes oncológicos pediátricos - revisão de literatura. Rev Odont UNESP. 2007; 36(3): 275-80.
2. Anderson MW, Izutsu KT, Rice JC. Parotid gland pathophysiology after mixed gamma and neutron irradiation of cancer patients. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1981; 52(5): 495-500.
3. Arora R, Chawla R, Puri SC, Sagar R, Singh S, Kumar R et al. Radioprotective and antioxidant properties of low-altitude Podophyllum hexandrum (LAPH). J Environ Pathol Toxicol Oncol. 2005; 24(4): 299-314.
4. Atkinson JC, Fox PC. Salivary gland dysfunction. Clin Geriatr Med. 1992; 8(3): 499-511.
5. Balzarini A, Felisi E, Martini A, De Conno F. Efficacy of homeopathic treatment of skin reactions during radiotherapy for breast cancer: a randomised, double-blind clinical trial. Br Homeopath J. 2000; 89(1): 8-12.
6. Banerjee P, Bhattacharyya SS, Pathak S, Naoual B, Belon P, Khuda-Bukhsh AR. Comparative efficacy of two microdoses of a potentized homeopathic drug, arsenicum album, to ameliorate toxicity induced by repeated sublethal injections of arsenic trioxide in mice. Pathobiology. 2008; 75(3): 156-70.
7. Boraks G, Tampelini FS, Pereira KF, Chopard RP. Effect of ionizing radiation on rat parotid gland. Braz Dent J. 2008; 19(1): 73-6.
8. Cheyne VD. A description of the salivary glands of the rat and a procedure for their extirpation. J Dent Res. 1939; 18(5): 457-68.

9. Coppes RP, Zeilstra LJW, Kampinga HH, Konings AWT. Early to late sparing of radiation damage to the parotid gland adrenergic and muscarinic receptor agonists. *Br J Cancer*. 2001; 85(7): 1055-63.
10. Coppes RP, Vissink A, Konings AWT. Comparison of radiosensitivity of rat parotid and submandibular glands after different radiation schedules. *Radiotherapy and Oncology*. 2002; 63(3): 321-28.
11. Danno K, Colas A, Masson JL, Bordet MF. Homeopathic Treatment of Migraine in Children: Results of a Prospective, Multicenter, Observational Study. *J Altern Complement Med*. 2012; Sep 14.
12. Das S, Saha SK, De A, Das D, Khuda-Bukhsh AR. Potential of the homeopathic remedy, Arnica Montana 30C, to reduce DNA damage in *Escherichia coli* exposed to ultraviolet irradiation through up-regulation of nucleotide excision repair genes. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2012; 10(3): 337-46.
13. De A, Das D, Dutta S, Chakraborty D, Boujedaini N, Khuda-Bukhsh AR. Potentiated homeopathic drug Arsenicum Album 30C inhibits intracellular reactive oxygen species generation and up-regulates expression of arsenic resistance gene in arsenite-exposed bacteria *Escherichia coli*. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2012; 10(2): 210-27.
14. D'Huyvetter K, Cohrssen A. Homeopathy. *Prim Care*. 2002; 29(2): 407-18.
15. Eizayaga JE, Eizayaga JI. Prospective observational study of 42 patients with atopic dermatitis treated with homeopathic medicines. *Homeopathy*. 2012; 101(1): 21-7.
16. Funegard U, Johansson I, Malmer B, Henriksson R, Ericson T. Can alpha tocopherol and beta-carotene supplementation reduce adverse radiation effects on salivary glands? *Eur J of Cancer*. 1995; 31A (13-14): 2347-53.

17. Gupta NK. Modification of radiation induced changes in murine hepatic lipid profiles by garlic (*Allium sativum* Linn.) unsaturated oils. *Indian J Exp Biol.* 1996; 34(9): 851-3.
18. Haila S, Koskinen A, Tenovu J. Effects of homeopathic treatment on salivary flow rate and subjective symptoms in patients with oral dryness: a randomized trial. *Homeopathy.* 2005; 94(3): 175-81.
19. Hakim SG, Benedek GA, Su YX, Jacobsen HC, Klinger M, Dendorfer A *et al.* Radioprotective effect of lidocaine on function and ultrastructure of salivary glands receiving fractionated radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012; 82(4): 623-30.
20. Hong CH, Napeñas JJ, Hodgson BD, Stokman MA, Mathers-Stauffer V, Elting LS *et al.* A systematic review of dental disease in patients undergoing cancer therapy. *Support Care Cancer.* 2010; 18(8): 1007-21.
21. Hughes HR. In: Principles and practice of homeopathy. New Delhi: Jain Publishers; 1991.
22. Portal - Instituto Nacional de Câncer – INCA. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>.
23. Jonas WB, Kaptchuk TJ, Linde K. A critical overview of homeopathy. *Ann Intern Med.* 2003; 138(5): 393-9.
24. Jonas W.B, Jacobs J. A cura através da homeopatia, Rio de Janeiro, editora Campus, 1996.
25. Kim JK, Kim JH, Yoon YD. Evaluation of caffeine as a radioprotector in whole-body irradiated male mice. *In Vivo.* 2003; 17(2): 197-200.
26. Klimenko PM. Homeopathic therapy of chronic prostatitis in participants of the Chernobyl AES accident clean-up. *Klin Khir.* 1998; (12): 43-5.

27. Leslie MD, Dische S. The early changes in salivary gland function during and after radiotherapy given for head and neck cancer. *Radiother Oncol.* 1994; 30(1): 26-32.
28. Li Y, Taylor JM, Ten Haken RK, Eisbruch A. The impact of dose on parotid salivary recovery in head and neck cancer patients treated with radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007; 67(3): 660-9.
29. Lôbo ALG, Martins GB. Consequências da radioterapia na região de cabeça e pescoço: uma revisão de literatura. *RPE, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial.* Volume 50, nº 4, 2009.
30. Manzi FR, Bóscolo FN, de Almeida SM; Tuji FM. Morphological study of the radioprotective effect of vitamin E (dl-alpha-tocopheril) in tissue reparation in rats. *Radiol Bras.* 2003; 36(6): 367-71.
31. Michalani G. Técnica histológica em anatomia patológica. São Paulo: Pedagógica e Universitária; 1980.
32. Mikhvetadze AV, Nadateishvili GG. Peculiarities of ion transport of calcium in tumor cells under conditions of irradiation by ionizing radiation, chemopreparations and homeopathic means. *Georgian Med News.* 2006; (140): 98-100.
33. Montfort H. A new homeopathic approach to neoplastic diseases: from cell destruction to carcinogen-induced apoptosis. *Br Homeopath J.* 2000; 89(2): 78-83.
34. Mossman KL, Shatzman AR, Chencharick JD. Effects of radiotherapy on human parotid saliva. *Radiat Res.* 1981; 88(2): 403-12
35. Murad AM, Katz A. *Oncologia: bases clínicas do tratamento.* 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996.
36. Nagler RM, Baum BJ, Fox PC. Acute effects of X Irradiation on the function of rat salivary glands. *Radiat Res.* 1993a; 136(1): 42-47.

37. Nagler RM, Baum BJ, Fox PC. Effects of X-Irradiation on the function of rat salivary glands at 3 and 40 days. *Radiat Res.* 1993b; 136(3): 392-96.
38. Nagler RM, Marmary Y, Fox PC, Baum BJ, Har-El R, Chevion M. Irradiation-induced damage to the salivary glands: the role of redox-active iron and copper. *Radiat Res.* 1997; 147(4): 468-75.
39. Nagler RM, Baum BJ, Miller G, Fox PC. Long term salivary effects of single dose head and neck irradiation in the rat. *Archs Oral Biol.* 1998; 43(4): 297-303.
40. Nagler RM. The enigmatic mechanism of irradiation-induced damage to the major salivary glands. *Oral Dis.* 2002; 8(3): 141-146.
41. Nery LR Efeito da homeopatia, fitoterapia e vitamina E sobre glândula parótida de ratos irradiados [dissertação]. Piracicaba: FOP/UNICAMP; 2011. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000788265>.
42. Niehoff P, Springer IN, Açil Y, Lange A, Marget M, Roldán JC *et al.* HDR brachytherapy irradiation of the jaw - as a new experimental model of radiogenic bone damage. *J Craniomaxillofac Surg.* 2008; 36(4): 203-9.
43. Novaes PERS. Radioterapia. In: Brentani MM, Coelho FRG, Iyeyasu H, Kowalski LP, editores. *Bases da oncologia.* 1.ed. Sao Paulo: Ed. Marina; 1998.
44. O'Connell AC, Redman RS, Evans RL, Ambudkar IS. Radiation-induced progressive decrease in fluid secretion in rat submandibular glands is related to decreased acinar volume and not impaired calcium signaling. *Radiat Res.* 1999; 151(2): 150-8
45. Otmani N. Oral and maxillofacial side effects of radiation therapy on children. *J Can Dent Assoc.* 2007; 73(3): 257-61.

46. Patt HM, Tyree EB, Straube RL, Smith DE. Cysteine protection against x-irradiation. *Science*. 1949; 110(2852): 213-14.
47. Ramos FM, Pontual ML, de Almeida SM, Bóscolo FN, Tabchoury CP, Novaes PD. Evaluation of radioprotective effect of vitamin E in salivary dysfunction in irradiated rats. *Arch Oral Biol*. 2006; 51(2): 96-101.
48. Roslindo EB, Utrilla LS, Roslindo NC, Onofre MA. Estudo histomorfológico da glândula parótida de rato jovem, submetida à radiação ionizante. *Rev Odontol UNESP*. 1989; 18: 131-42.
49. Sakakura CE, Neto RS, Bellucci M, Wenzel A, Scaf G, Marcantonio E Jr. Influence of homeopathic treatment with comfrey on bone density around titanium implants: a digital subtraction radiography study in rats. *Clin Oral Implants Res*. 2008; 19(6): 624-8.
50. Salvajoli JV, Souhami L, Faria SL. *Radioterapia em oncologia*. 1.ed. Rio de Janeiro: Ed. Médica e Científica Ltda.; 1999.
51. Shan ZC, Li J, Ou GF, Liu XY, Zhang CM, Wang SL. Effect of single dose irradiation to parotid gland on the structured and function changes of bilateral parotid glands in miniature pig. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2006; 24(1): 83-5.
52. Schlappack O. Homeopathic treatment of radiation-induced itching in breast cancer patients. A prospective observational study. *Homeopathy*. 2004; 93(4): 210-5.
53. Schneyer LH, Schneyer CA. Inorganic composition of saliva. In: Code CF (ed) *Handbook of alimentary canal*, 1967, vol II. American Physiological Society, Washington, 497-530.
54. Spetch L. Oral complications in the head and neck irradiated patient. Introduction and scope of the problem. *Supp Care Dent* 2002; 10: 36-9.

55. Spin-Neto R, Belluci MM, Sakakura CE, Scaf G, Pepato MT, Marcantonio E Jr. Homeopathic *Symphytum officinale* increases removal torque and radiographic bone density around titanium implants in rats. *Homeopathy*. 2010; 99(4): 249-54.
56. Tsujii H. Quantitative dose-response analysis of salivary function following radiotherapy using sequential RT-sialography. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1985; 11(9): 1603-12.
57. Tuji FM, Pontual ML, Barros SP, Almeida SM, Bóscolo FN. Ultrastructural assessment of the radioprotective effects of sodium selenite on parotid glands in rats. *J Oral Sci*. 2010; 52(3): 369-75.
58. Vacha P, Fehlaue F, Mahlmann B, Marx M, Hinke A, Sommer K *et al*. Randomized phase III trial of postoperative radiochemotherapy +/- amifostine in head and neck cancer. Is there evidence for radioprotection? *Strahlenther Onkol*. 2003; 179(6): 385-9.
59. Vasconcelos NP, Caran EM, Lee ML, Lopes NN, Weiler RM. Dental maturity in children with acute lymphoblastic leukemia after cancer therapy. *Forensic Sci Int*. 2009; 184(1-3): 10-14.
60. Vissink A, 's-Gravenmade EJ, Ligeon EE, Konings WT. A functional and chemical study of radiation effects on rat parotid and submandibular/sublingual glands. *Radiat Res*. 1990; 124(3): 259-65.
61. Weiss JF, Landauer MR. Protection against ionizing radiation by antioxidant nutrients and phytochemicals. *Toxicology*. 2003; 189(1-2): 1-20.
62. Winterholler M, Erbguth F, Neundörfer B. The use of alternative medicine by multiple sclerosis patients--patient characteristics and patterns of use. *Fortschr Neurol Psychiatr*. 1997; 65(12): 555-61.

ANEXO 1: Aprovação do Protocolo de Pesquisa pelo Comitê de Ética da FOP-UNICAMP



UNICAMP

CEUA/Unicamp

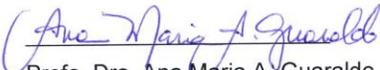
**Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA/Unicamp**

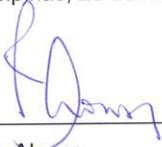
CERTIFICADO,

Certificamos que o projeto "**Efeito da homeopatia e do álcool na morfologia de alvéolos e glândulas salivares de ratos irradiados**" (protocolo nº **2674-1**), sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo / Phillipe Nogueira Barbosa Alencar**, está de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotados pela **Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL)** e com a legislação vigente, **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, e o **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP - em **26 de março de 2012**.

Campinas, 26 de março de 2012.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente


Fátima Atonso
Secretária Executiva

CEUA/UNICAMP
Caixa Postal 6109
13083-970 Campinas, SP – Brasil

Telefone: (19) 3521-6359
E-mail: comisib@unicamp.br
<http://www.ib.unicamp.br/ceea/>