



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FELIPE AUGUSTO JULIANI

**EFEITOS DA CICLOFOSFAMIDA NA ODONTOGÊNESE E PROPRIEDADES DA
FOTOTERAPIA: REVISÃO DA LITERATURA**

LONDRINA

2013

FELIPE AUGUSTO JULIANI

**EFEITOS DA CICLOFOSFAMIDA NA ODONTOGÊNESE E PROPRIEDADES DA
FOTOTERAPIA: REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Graduação em Odontologia da Universidade
Estadual de Londrina, como requisito parcial
à obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientador: Profa. Dra. Maria José Sparça
Salles

Londrina
2013

FELIPE AUGUSTO JULIANI

**EFEITOS DA CICLOFOSFAMIDA NA ODONTOGÊNESE E PROPRIEDADES DA
FOTOTERAPIA: REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Graduação em Odontologia da Universidade
Estadual de Londrina, como requisito parcial
à obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

BANCA EXAMINADORA

_____ Orientador:
Prof. Dra. Maria José Sparça Salles
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Solange de Paula Ramos
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, ____ de _____ de ____.

Dedico este trabalho a Deus, pois sem ele nada seria possível.

AGRADECIMENTO (S)

Agradeço a Deus, acima de tudo. Pois sem a tua ajuda Pai, nada disso teria razão e sentido. MUITÍSSIMO obrigado por mais esta conquista. A ti Senhor, tudo devo. Minha eterna gratidão.

Aos meus pais, por todo suporte, brigas e motivação. Pai e Mãe, essa é pra vocês. Muito obrigado por todo esforço e sacrifício para me manter firme em meus estudos. Amo vocês do fundo da minha alma.

A minha namorada Elisa Jacomassi dos Santos, por toda ajuda possível e impossível, por me escutar, me dar sermões, pela cumplicidade, por brigar e me fazer enxergar o óbvio. E por toda ajuda na minha formação acadêmica. Minha eterna gratidão e todo o meu amor.

A professora Maria José Sparça Salles, pelo voto de confiança, apoio e paciência e aos professores da COU-UDEL, Márcio Grama Hoepner e Maria Beatriz Bergonse Pereira Pedriali (Bia), por toda ajuda na graduação, apoio, incentivo, conselhos e trabalhos. Vocês são a minha fonte de inspiração.

A minha dupla, parceira e colega Rafaela Gheller. Rafa, MUITÍSSIMO obrigado por toda ajuda seja me escutando, me ajudando, ensinando, principalmente nos dias de cirurgia (que sofrimento!), por escutar minhas reclamações e por me dar conselhos. Muito obrigado Rafa, rezo pra que Deus ilumine sempre o seu caminho e torço para que de tudo certo na sua vida, hoje e sempre!

E aos colegas de sala, por toda ajuda e diversão.

“Winter is coming”

George R R Martin

JULIANI, Felipe Augusto. **Efeitos da ciclofosfamida sobre a odontogênese e propriedades da fototerapia: revisão de literatura**: 2013. 35 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso Odontologia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

RESUMO

A ciclofosfamida é uma droga utilizada no tratamento de neoplasias, doenças autoimunes e transplantes de medula óssea e células tronco. A droga tem a capacidade de destruir células com alta taxa de mitose, incluindo os tecidos dentários em desenvolvimento. A literatura relata danos na dentição decídua e permanente, incluindo microdontia, atraso na erupção dentária, aplasia dental e baixo desenvolvimento das raízes. Em contrapartida, vários estudos com laser de baixa potência, em especial o diodo emissor de luz (LED) tem demonstrado efeitos biológicos de interesse terapêutico, como a diminuição no tempo de cicatrização, capacidade de estimular a divisão celular, analgesia e vasodilatação. Atuam também na síntese do DNA e RNA. O presente trabalho tem como objetivo desenvolver uma revisão da literatura, sobre os mecanismos de lesão provocados pela ciclofosfamida na odontogênese de dentes decíduos e permanentes que podem ser potencialmente inibidos ou prevenidos pela LEDterapia. Foram utilizadas às plataformas de busca CAPES, PUBMED, SIC-HUB para coleta de artigos, teses, e citações de livros. Os termos de busca foram: *odontogenesis, dental, ameloblast, odontoblast, cyclophosphamide, low-level light therapy, light-emitting diodes*. Conclui-se que a ciclofosfamida afeta tanto a dentição decídua e permanente devido aos seus efeitos alquilantes e que a fototerapia tem potencial terapêutico para prevenir ou diminuir os danos causados pela ciclofosfamida, devido as suas propriedades indutoras de proliferação celular, antiinflamatórias e anti-oxidantes.

Palavras-chave: Antinéoplasicos Alquilantes. Ciclofosfamida. Fototerapia. LEDterapia. Regeneração Tecidual.

JULIANI, Felipe Augusto: **Effects of cyclophosphamide on odontogenesis e properties of phototherapy: literature review**. 2013. 35 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso Odontologia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

ABSTRACT

Cyclophosphamide is a drug used to treat cancer, autoimmune diseases and transplantation of bone marrow and stem cells. The drug has the ability to destroy cells with a high mitotic rate, including dental tissue development. The literature reports damage in deciduous and permanent dentition, including microdontia , delayed tooth eruption , dental aplasia and low root development . In contrast , studies with low-power laser , in particular light emitting diode (LED) has demonstrated biological effects of therapeutic interest, as the decrease in healing time , ability to stimulate cell division, analgesia and vasodilation . Also in the synthesis of DNA and RNA. The present work aims to develop a literature review on the mechanisms of injury caused by cyclophosphamide in odontogenesis of deciduous and permanent teeth that can potentially be inhibited or prevented by LEDterapia . We used the search platforms CAPES , PUBMED , SIC - HUB to collect articles, theses , books and quotes . The search terms were: odontogenesis , dental, ameloblast , odontoblast , cyclophosphamide , low- level light therapy light- emitting diodes . It is concluded that cyclophosphamide affects both deciduous and permanent because of its effects and alkylating phototherapy has therapeutic potential for preventing or reducing the damage caused by cyclophosphamide , due to its inducing properties of cell proliferation, anti-inflammatory and anti -oxidants.

Keywords: Alkylating antineoplastic. Cyclophosphamide. Phototherapy. LEDterapia. Tissue Regeneration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Metabólitos da ciclofosfamida	00
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	01
2	OBJETIVOS.....	03
3	METODOLOGIA.....	03
4	REVISÃO DA LITERATURA	04
4.1	Metabolismo da ciclofosfamida	04
4.2	Dosagem	06
4.3	Evidencias experimentais do efeito citotóxico da ciclofosfamida sobre os tecidos odontogênicos	07
4.4	Anomalias dentárias em pacientes pediátricos tratados com ciclofosfamida	09
4.5	Fototerapia.....	11
4.5.1	Mecanismo de ação	11
5	CONCLUSÃO	15
	REFERÊNCIAS.....	16

1 INTRODUÇÃO

A ciclofosfamida é um importante fármaco utilizado no tratamento de neoplasias, doenças autoimunes e nos transplantes de medula óssea e células tronco (Vahlsing, Kim e Feringa, 1977; Chinnaswamy *et al.*, 2011). A droga contém um agente alquilante que altera ou evita a duplicação do DNA, inativando importantes proteínas necessárias para replicação do DNA, transcrição do RNA e provocando também alterações na integridade da célula e do metabolismo (Gurtoo, Hipkens e Sharma, 1981; Berrigan, Struck e Gurtoo, 1987), tanto da célula sadia, quanto da célula neoplásica. Alguns trabalhos comprovaram que a ciclofosfamida provoca a formação de radicais livres que são capazes de causar danos ao DNA, proteínas e lipídios, tendo grande potencial para causar lesão por estresse oxidativo (Gurtoo, Hipkens e Sharma, 1981; Berrigan, Struck e Gurtoo, 1987; Tripathi e Jena, 2010; Liu *et al.*, 2012). Existe uma relação direta entre a dose empregada e a destruição de células (Matheus, 1990), dentro dos limites de tolerância do hospedeiro. Uma determinada dose da droga destrói uma proporção constante de células, e não um número constante, independente da quantidade de células que exista quando se administra a droga. Isto significa que a destruição das células por este agente segue uma progressão cinética de primeiro grau: um tratamento que reduz um milhão de células a dez mil deve reduzir uma população de cem células a uma (Adatia, 1975; Cole *et al.*, 2000).

A ciclofosfamida é portadora inativa de um grupo alquilante potencial, suscetível de ativação no tumor por uma fosfamidase, que se supunha ser mais abundante em células tumorais do que nas análogas normais. Porém não existe esta diferença em relação à quantidade desta enzima entre células tumorais e as análogas normais (Hales, 1982). A única diferença que ocorre, no geral, é da fração proliferativa que, nas células normais, é muito menor na maioria dos tecidos. Desta forma, a ciclofosfamida age em todo organismo hospedeiro, fazendo sentir mais sua ação em células com alta porção proliferativa em um mesmo espaço de tempo (Matheus *et al.*, 1990). Isto torna as células do germe dentário particularmente sensível à ação da ciclofosfamida, devido alta taxa proliferativa dos tecidos odontogênicos em desenvolvimento.

Os danos causados pela ciclofosfamida variam desde lesões na mucosa bucal, devido menor proliferação de células do epitélio da mucosa gengival até alterações na formação dos dentes (Vahlsing, Kim e Feringa, 1977; Koppang, 1978; Nasman, Forsberg e Dahllof, 1997; Cole *et al.*, 2000; Hsieh *et al.*, 2011; Nishimura *et al.*, 2013).

As alterações causadas pela ciclofosfamida no desenvolvimento dos dentes de ratos e camundongos incluem desde o retardo na maturação do germe dental dos incisivos (Koppang, 1978), o aparecimento de zonas de necrose na polpa

(Vahlsing, Kim e Feringa, 1977; Koppang, 1978), zonas acelulares abaixo da polpa (na última camada de dentina), retardo no desenvolvimento das raízes e na erupção dentária (Adatia, 1975; Vahlsing, Kim e Feringa, 1977; Koppang, 1978; Anton, 1996). Os dentes também demonstram alterações de desenvolvimento com o surgimento de dentina hipoplásica, sendo que as células mesenquimais aparentemente são mais afetadas pelos efeitos tóxicos da ciclofosfamida (Stekar, 1973; Koppang, 1978).

A administração de ciclofosfamida em fetos de camundongos provoca danos irreversíveis na estrutura embrionária (Koppang, 1978). Os danos variam desde defeitos na mineralização, que criam pequenos locos de resistência que aparecem macroscopicamente como más formações, fragilidade e fratura dos incisivos, redução do tamanho dos incisivos, alterações na camada pré-ameloblástica e dentes supranumerários no mesmo alvéolo (Koppang, 1978).

Os achados clínicos em crianças submetidas aos protocolos de tratamento que incluem o uso da ciclofosfamida para doenças neoplásicas, autoimunes transplantes de células-tronco e medula óssea incluem a calcificação incompleta dos dentes, hipoplasia do esmalte, afinamento das raízes e fechamento prematuro do ápice radicular, relacionados a crianças que sobreviveram de 6-30 meses de quimioterapia (Nasman, Forsberg e Dahllof, 1997; Cole *et al.*, 2000; Holtta *et al.*, 2005; Hsieh *et al.*, 2011). A terapia com laser de baixa potência ou diodos emissores de luz, conhecido como fototerapia, têm apresentado propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e de cicatrização (Firat, Dag, Gunay, Kaya, Karadede, Ersoz Kanay, *et al.*, 2013; Firat, Dag, Gunay, Kaya, Karadede, Kanay, *et al.*, 2013; Fonseca *et al.*, 2013). O laser de baixa intensidade tem sido utilizado por cirurgiões para diminuir o tempo de cicatrização e a ocorrência de comorbidades na ferida operatória e no tratamento da mucosite oral e dores orofaciais (Paschoal e Santos-Pinto, 2012; Antunes *et al.*, 2013; Ferrante *et al.*, 2013; Panhoca *et al.*, 2013).

Efeitos da biomodulação, incluindo a capacidade de estimular a divisão celular, vasodilatação, aumento da síntese proteica, da atividade da superóxido dismutase e outros sistemas anti-oxidantes celulares, tem sido associados a capacidade de promover a cicatrização e reparo em tecidos bucais em estudo clínicos e experimentais utilizando lasers de baixa potência e LEDterapia (Martu *et al.*, 2012; Paschoal e Santos-Pinto, 2012; Firat, Dag, Gunay, Kaya, Karadede, Ersoz Kanay, *et al.*, 2013; Firat, Dag, Gunay, Kaya, Karadede, Kanay, *et al.*, 2013; Fonseca *et al.*, 2013; Pezelj-Ribaric *et al.*, 2013). Atuam também na síntese de RNA e DNA devido à alteração de moléculas fotoabsorventes, como porfirinas e flavoproteínas (Pallotta *et al.*, 2012) (PALLOTTA., 2012). A fototerapia também atua na reparação tecidual promovendo a proliferação de fibroblastos, síntese de fibras colágenas e angiogênese, promovendo o fechamento de feridas cutâneas (Hussein *et al.*, 2011; Basso *et al.*, 2012; Huang, T. H. *et al.*, 2013) .

2.0 Objetivo

Revisar evidências literárias sobre a possível aplicação terapêutica da fototerapia na prevenção de lesões provocadas por ciclofosfamida sobre a dentição decídua e permanente.

2.1 Revisar a literatura científica em relação aos danos e mecanismos de lesão provocados pela ciclofosfamida sobre o desenvolvimento da dentição.

2.2 Revisar mecanismos de ação da fototerapia que podem ser aplicados na prevenção de lesões causadas pela ciclofosfamida sobre os germes dentários.

3.0 Metodologia

Para o desenvolvimento desta revisão de literatura, utilizamos as plataformas de pesquisa PERIODICOS CAPES, National Center for Biotechnology Information – National Library of Medicine- PUBMED, Science-HUß. Utilizando as palavras chaves no idioma inglês: Ciclofosfamida, Ciclofosfamida + Pediatria, Ciclosfosmamida + dental, Ciclosfosfamida + odontoblasto, Ciclofosfamida + ameloblasto.

Para pesquisar sobre a Fototerapia com Lasers de Baixa Potencia, foram utilizadas as mesmas plataformas de pesquisa descritas acima, porém as palavras chaves utilizadas foram, Fototerapia, LEDterapia, Low Level Diode, Low Level Light Therapy, , Photobiomodulation.

4.0 Revisão da Literatura

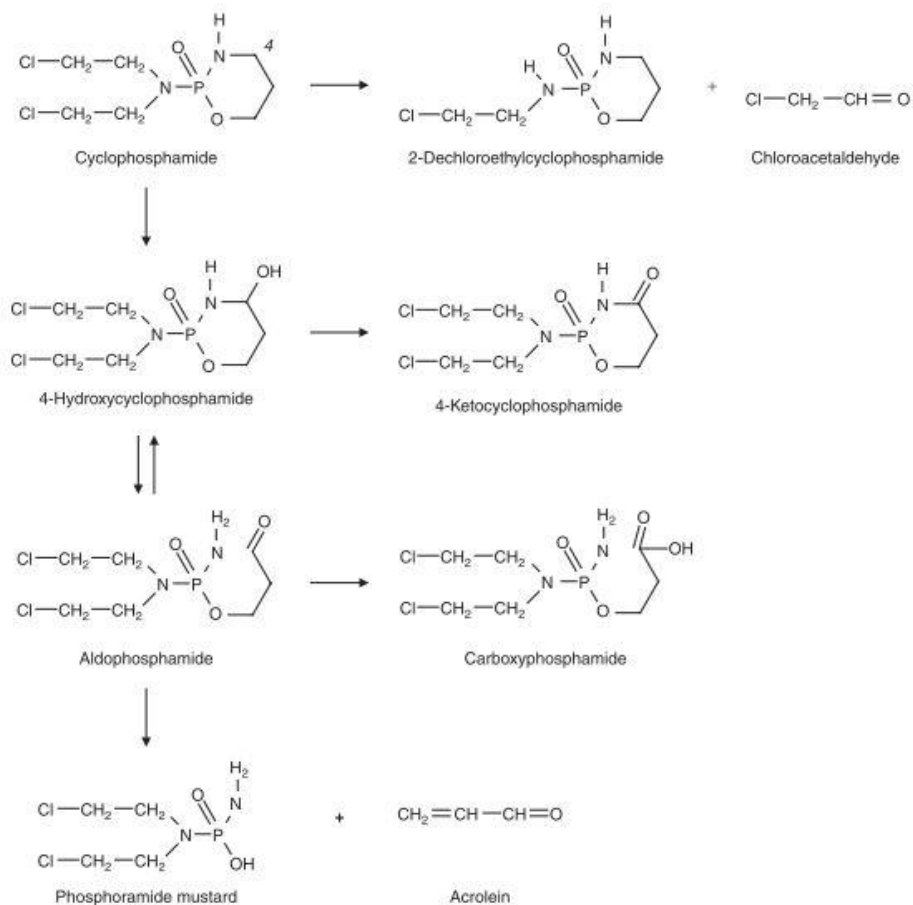
4.1 Metabolismo da ciclofosfamida

As observações feitas de que o gás mostarda causa redução linfocitária no sangue periférico levaram a descoberta de que os derivados do azoto de mostarda contém propriedades citotóxicas. A ciclofosfamida, no qual o grupo de azoto de mostarda (bis-cloretilamina) está ligado a um anel *oxazaphosphorine*, foi introduzido como um agente antineoplásico em 1958 (Arnold, Bourseaux e Brock, 1958). A droga é amplamente utilizada, no tratamento antineoplásicos e de doenças autoimunes (De Jonge *et al.*, 2005; Brummaier *et al.*, 2013).

A ciclofosfamida é um agente alquilante utilizado nos tratamentos de câncer em pediatria como leucemias, lipomas, rabdomiossarcoma, sarcoma de Ewing e tumores cerebrais. Também pode ser utilizadas em transplantes de medula óssea, células tronco e nos tratamentos de doenças autoimunes como reumatismo e lúpus eritematoso (De Jonge *et al.*, 2005; Chinnaswamy *et al.*, 2011; Fukushima *et al.*, 2011; Chung *et al.*, 2013).

A droga inativa requer bioativação para manifestar seus efeitos teratogênicos, por ação dos seus metabólitos nas células eucarióticas. A metabolização e ativação da droga ocorrem no fígado. Aproximadamente 70-80% da dose administrada de ciclofosfamida é ativada pelo citocromo P450 (CYP) via função mista de oxidação, formando 4-hydroxycyclophosphamide que está em equilíbrio com seu isômero aldophosphamide (Figura 1.0) (Xie *et al.*, 2005; Afsharian *et al.*, 2007).

Figura 1.0 - Metabólitos da Ciclofosfamida



Fonte: (JONGE, 2005)

A 4 - hydroxycyclophosphamide difunde-se facilmente pelas células (Boyd *et al.*, 1986) e não é citotóxica. É extremamente instável e se decompõem espontaneamente em mostarda de fosforamida pela beta-eliminação da acroleína (Connors *et al.*, 1974; Friedman, Wodinsky e Myles, 1976). Essa conversão pode ser em parte, catalisada pela albumina ou outras proteínas (Kwon *et al.*, 1987). Estudos demonstram que a mostarda de fosforamida é o metabolito responsável pelos danos causados nas células, mas por ser facilmente ionizada em pH fisiológico necessita, então, de um carreador de transporte para o interior da célula para poder exercer seus efeitos citotóxicos. Com isso 4 - hydroxycyclophosphamide funciona o como um transportador deste metabolito para o interior da célula (Connors *et al.*, 1974). A mostarda de fosforamida é o agente alquilante da ciclofosfamida que altera ou evita a duplicação do DNA, inativando importantes proteínas necessárias para replicação do DNA, transcrição do RNA e provocando também alterações na integridade da célula e do metabolismo (Adatia, 1975; Gurtoo, Hipkens e Sharma, 1981). Admite-se que a reação conduz à morte celular devido à alquilação do DNA na posição N-7 da guanina, durante a divisão celular. Esta reação leva à perda da purina e,

consequentemente, a ruptura da cadeia de DNA o que impede a síntese normal do mesmo, levando a apoptose celular (Connors *et al.*, 1974; Shulman, 1993).

Esperava-se que a mostarda de fosforamida atuasse de forma específica sobre as células neoplásicas por causa da suposta abundância da fosforamidase nas células tumorais. No entanto não existe esta diferença entre as células neoplásicas e as células sadias. De uma forma geral, a fração proliferativa nas células sadias é muito menor na maioria dos tecidos. Desta forma, a mostarda de fosforamida age em todo o organismo hospedeiro fazendo sentir mais sua ação nas células que normalmente se dividem mais vezes, num mesmo espaço de tempo como as células do tecido hematopoiético, epitélio de células gastrointestinais, gônadas e células odontogênicas dos germes dentais (Shulman, 1993; De Jonge *et al.*, 2005). Estudos em modelos animais demonstram que a ciclofosfamida é capaz induzir a formação de radicais livres, poder oxidativo, e causando danos ao DNA, proteínas e lipídios. A formação de radicais livres é apontada como causa importante da lesão celular causada pela droga, produzindo apoptose e necrose celular (Gurtoo, Hipkens e Sharma, 1981; Berrigan, Struck e Gurtoo, 1987; Afsharian *et al.*, 2007).

4.2 Dosagem

Os danos causados pela ciclofosfamida ocorrerão em maior ou menor grau dependendo de dois fatores: 1) o grau da atividade mitótica da célula e a dosagem da droga (Adatia, 1975). Em um experimento, ADATIA e colaboradores (1975), utilizaram incisivos centrais de camundongos e analisaram, com três diferentes dosagens de ciclofosfamida (40, 80 e 120 mg/kg), os possíveis danos citotóxicos causados pela droga. O estudo demonstrou que nos três grupos houve danos consideráveis nos tecidos mesenquimais indiferenciados próximos da camada odontoblástica. A extensão do dano foi maior quando se aumentava a dosagem. Nas células odontoblásticas e ameloblásticas não foram encontrados dano aparente no grupo de 40mg, mas nos de 80 e 120 mg foi encontrado algumas anormalidades. Estes resultados sugeriram que as células mesenquimais indiferenciadas, próximas da camada odontogênica, que apresentavam alta atividade mitótica, sofreram maiores danos comparados com as células odontoblásticas e ameloblásticas. No entanto, o aumento da concentração da droga pode provocar danos em ameloblastos e odontoblastos. Os estudos de ADATIA e colaboradores (1975) estão de acordo com outros estudos que analisaram a resposta dos tecidos pulpaes frente à ciclofosfamida (Anton, 1996) e encontraram resultados semelhantes. Os resultados dos estudos experimentais demonstraram que, a ciclofosfamida atua inibindo a atividade das células em qualquer estágio de diferenciação de forma dose-dependente (MATHEUS *et al.*, 1990).

Em pacientes pediátricos, a administração de altas doses de ciclofosfamida (500 a 1500mg/kg/dia) é utilizada na imunossupressão pré-transplante (Inagaki *et al.*,

2013), no tratamento de tumores cerebrais (Smith, Shi e Estlin, 2012; Ashraf *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2013), e em associação com tratamento imunossupressor para lúpus eritematoso e doenças vasculares (Robison *et al.*, 2013; Vachvanichsanong, Dissaneewate e Mcneil, 2013; Vachvanichsanong e Mcneil, 2013). Doses baixas de ciclofosfamida (1.5 a 15mg/kg/dia) são utilizadas, em combinação com outros agentes quimioterápicos no pré-condicionamento de crianças com anemia aplásica severa e β talassemia que receberão transplante (Li *et al.*, 2012; Chung *et al.*, 2013) e no tratamento de distúrbios angiogênicos proliferativos como hemangiomas e vasculites (Hutchinson *et al.*, 2010; Fukushima *et al.*, 2011). A droga pode ser administrada por via oral, ou em ciclos, a cada 4 semanas (Hutchinson *et al.*, 2010; Fukushima *et al.*, 2011; Ashraf *et al.*, 2013; Chung *et al.*, 2013; Inagaki *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2013). A faixa etária de tratamento incluem crianças de 3 meses a adolescentes (Fukushima *et al.*, 2011; Robison *et al.*, 2013). Estes resultados sugerem que a dentição decídua e permanente pode sofrer comprometimento do seu desenvolvimento, dependendo da idade, da dose e do tempo de administração da droga, em pacientes pediátricos (Nishimura *et al.*, 2013).

4.3 Evidências experimentais do efeito citotóxico da Ciclofosfamida sobre os tecidos odontogênicos

Estudos experimentais demonstram que a utilização da ciclofosfamida afeta no desenvolvimento dos tecidos odontogênicos em desenvolvimento dos germes dentais (Adatia, 1975; Anton, 1996).

Ativação e metabolização da droga ocorre em uma curva cinética, semelhante no homem e no rato, razão pela qual o rato é considerado um bom modelo experimental para pesquisar os efeitos da ciclofosfamida (Brock e Hohorst, 1967).

Em um estudo inicial sobre os efeitos da ciclofosfamida sobre o desenvolvimento de dentes de ratos demonstrou que a severidade das lesões dentais aumentava de forma dose-dependente (40, 80 e 120mg). Foram observadas células desintegradas, fragmentos de núcleo, paralisação no desenvolvimento das raízes, áreas acelulares abaixo da camada basal da polpa nos grupos de animais tratados com 80 e 120 mg de ciclofosfamida (Adatia, 1975).

Experimentos em linhagens de camundongos, com administração de uma dose única de 300 mg/kg de ciclofosfamida demonstraram que a droga promove danos imediatos e tardios aos tecidos dentários. Áreas de degradação celular foram observadas na região de retículo estrelado, após 2 horas de administração da droga. Após 24 horas, áreas de necrose e vacuolização células foram observadas na polpa dentária. Neste mesmo período, foi observada ausência de mitose de ameloblastos e extensas áreas de necrose em estrato intermediário e retículo estrelado. Após dois a três dias, áreas de necrose de retículo estrelado, estrato intermediário, epitélio

interno do órgão do esmalte e polpa foram observadas. As figuras de mitose estavam ausentes das camadas de ameloblastos e odontoblastos. As alterações iniciais nas estruturas dentárias, resultou na formação de um defeito de esmalte e dentina, observado aos 30 dias após a administração da droga.(Anton, 1996). Um estudo com utilizando cultura de células da polpa humana demonstrou que a exposição das células a nove ciclos de incubação (12h) com ciclofosmadida provocaram alterações cromossômicas em concentrações de 25µM (16%) e 50µM (32%) (Tsutsui *et al.*, 2006). No entanto, os extratos de tecido pulpar cultivados *in vitro* e transplantados *in vivo*, em ratos Wistar, não perderam a capacidade de diferenciação em odontoblastos e síntese de matriz dentinária (Tsutsui *et al.*, 2006). Estes resultados sugerem que os tecidos mesenquimais que dão origem ao complexo dentina-polpa podem sofrer lesão de DNA, por ação da ciclofosfamida. No entanto, uma proporção de células mantém a capacidade de se diferenciar em células maduras e produzir matriz dentinária.

Além de alterações no DNA, os metabolitos da ciclofosfamida também provocam lesão celular por estresse oxidativo e indução de sinalização pró-inflamatória em células de Sertoli cultivadas *in vitro* (Liu *et al.*, 2012). A exposição de células a acroleína (um dos derivados ativos da ciclofosfamida) provoca o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, redução dos níveis de enzimas anti-oxidantes (catalase, glutathione peroxidase, superóxido desmutase) e da capacidade anti-oxidante total e ativação das vias de sinalização pró-inflamatórias via ERK e p38 *mitogen-activated protein kinase* (p38MAPK) (Liu *et al.*, 2012). O dano oxidativo provocado pela ciclofosfamida induz a desorganização do citoesqueleto celular, provocando a perda da arquitetura normal da célula e a ativação de vias de sinalização celular pró-apoptóticas (Yang *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012).

A administração de ciclofosfamida em ratos provoca lesão celular hepática, com aumento dos níveis de malondialdeído (produto final de estresse oxidativo), diminuição da atividade de glutathione reduzida, fragmentação do DNA e ativação de proteínas pró-apoptóticas p53 e p38. Como resultado, áreas de necrose e células em apoptose são observadas no tecido, após 24 horas de administração da droga (Tripathi e Jena, 2010).

4.4 Anomalias dentárias em pacientes pediátricos tratados com ciclofosfamida

Segundo o INCA (Instituto Nacional de Câncer), com base em referências dos registros de base populacional, são estimados mais de 9000 mil casos novos de câncer infanto-juvenil, no Brasil por ano, representando assim a segunda maior causa de morte no país entre adolescentes de 1-19 anos de idade, para todas as regiões. (INCA. Disponível em < http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=343> Acesso 8/04/2013).

Nas crianças, as neoplasias malignas diferem daquelas observadas nos adultos, tanto em relação a sua frequência quanto ao seu tipo histológico. O câncer na criança afeta as células do sistema hematopoiético e os tecidos de sustentação, enquanto que, no adulto, afeta as células do epitélio que recobrem os diferentes órgãos (Silav et al., 2002).

A taxa de pacientes pediátricos que sobreviveram ao tratamento do câncer vem aumentando ano após ano. Agora, a grande preocupação das equipes de saúde, após o tratamento, e sem ocorrer recidivas, recai sobre a qualidade de vida que o paciente terá pela frente. As consequências da quimioterapia, radioterapia e transplante de medula óssea já são bem documentados pela literatura (Huang, I. C. et al., 2013; Mertens et al., 2013).

Um estudo conduzido com pacientes submetidos à quimioterapia e irradiação total para realização de transplante de medula óssea e pacientes submetidos a altas doses de quimioterapia antineoplásica, antes dos 12 anos de idade, demonstrou que o tratamento com ciclofosfamida provocou anomalias de desenvolvimento na dentição permanente. Foram utilizados 3 pacientes saudáveis para cada criança que recebeu tratamento o tratamento. Ao analisar as radiografias panorâmicas notou-se que o grupo do transplante de medula óssea, que foi submetido à irradiação total do corpo mais tratamento com uma alta dose de ciclofosfamida, exibiu maiores danos na dentição do que o grupo tratado apenas com ciclofosfamida. Foram observadas raízes curtas em formato de V, em 15 dos 16 pacientes do grupo que recebeu transplante 1, enquanto no grupo que recebeu apenas ciclofosfamida apenas 11 pacientes apresentavam encurtamento radicular. Redução do tamanho dos dentes, baixo desenvolvimento radicular com fechamento prematuro do ápice, hipoplasia de esmalte, microdontia e aplasia ocorreram em maior porcentagem no grupo transplantado do que no grupo submetido a tratamento anti-neoplásico. A hipoplasia de esmalte foi observada em 44% dos pacientes do grupo transplantado enquanto o distúrbio mais comum do grupo com neoplasia foi à aplasia, em 21% dos casos (Nasman, Forsberg e Dahllof, 1997). Os relatos deste estudo vão de encontro com o trabalho de Cole e colaboradores (2000) que observaram as mesmas alterações em análises de radiografias panorâmicas de 3 pacientes submetidos ao tratamento de uma rara doença chamada imunodeficiência combinada severa (SCID), cujo tratamento consistiu na utilização de dois quimioterápicos: o bussulfan e a ciclofosfamida, antes do transplante de medula óssea (Cole et al., 2000).

Estudo recente, em pacientes que receberam quimioterapia antes dos 12 anos de idade, demonstrou que o uso de quimioterapia com agentes alquilantes (incluindo a ciclofosfamida) promoveu anomalias de formação dentárias em 89,1% dos pacientes examinados, (Nishimura et al., 2013). A anomalia mais comum foi o encurtamento radicular, observado em 85,7% nos pacientes que receberam quimioterapia em altas doses. Todas as crianças que receberam quimioterapia antes dos quatro anos de idade apresentaram agenesias ou microdontia em algum dente, enquanto que 25% das crianças que receberam quimioterapia após 4 anos

apresentaram esta alteração. Não foi observada correlação com o tempo de tratamento, mas com a dose de agentes alquilantes utilizada (Nishimura *et al.*, 2013). Os resultados deste estudo sugerem que quanto mais precocemente é administrado o tratamento quimioterápico, maiores as chances de o paciente apresentar anomalias da dentição permanente.

Mais especificamente, um estudo em adolescentes que haviam recebido altas doses (>7500mg/kg) de ciclofosfamida durante a infância (média etária de 4.9 ± 3.6 anos, no início de tratamento) demonstrou que a droga foi um fator de risco para o desenvolvimento de anomalias dentárias (Hsieh *et al.*, 2011). Os autores demonstraram que a percentagem de defeitos de formação dentária (micordontia, aplasia, foi 21% maior nas crianças que foram submetidas a qualquer dosagem de ciclofosfamida, em relação ao uso de outras associações de drogas quimioterápicas (Hsieh *et al.*, 2011).

A morfogênese e calcificação dos dentes têm início com uma sequência de eventos na vida uterina e cessa 14-15 anos depois, com a completa formação das raízes, excluindo-se os terceiros molares. Entende-se, então, que é criada uma janela onde o meio externo pode interferir no desenvolvimento da dentição tanto decídua quanto permanente. Após este período, os efeitos citotóxicos da ciclofosfamida e de outros agentes antineoplásicos sobre as estruturas dentárias serão menos acentuados (Cole *et al.*, 2000).

Estudos em pacientes submetidos previamente ao tratamento com quimioterápicos, incluindo a ciclofosfamida, para transplante de medula óssea, após os doze anos de idade, apresentam poucas alterações de morfologia dentária. Análises de radiografias panorâmicas revelaram que estes pacientes apresentam encurtamento radicular em molares e pré-molares. A prevalência de hipodontia, microdontia, taurodontia e perolas de esmalte foi parecida a observada na população sadia (Vaughan *et al.*, 2005).

Os resultados dos estudos experimentais e clínicos sugerem que após a administração de quimioterapia, utilizando ciclofosfamida com e sem associação com outras drogas e irradiação, provocam alterações nos tecidos odontogênicos. O principal mecanismo de lesão parece ser a inibição da proliferação celular e indução de necrose e apoptose. Estes efeitos provocam alterações no desenvolvimento dos tecidos dentários, que são mais graves quando a droga é administrada antes dos 12 anos de idade. Considerando os possíveis danos causados pela droga aos tecidos dentários em formação, a administração de terapia com ação anti-oxidante, indutora da proliferação celular e de síntese proteica pode, em potencial, diminuir os riscos de desenvolvimento de lesões dentárias, após a remissão da doença.

A Fototerapia com LASER de baixa intensidade ou diodos emissores de luz (LEDs) é uma alternativa ao tratamento de lesões devido aos seus efeitos bioestimuladores. Dos efeitos biológicos da fototerapia, destacam-se a estimulação da proliferação celular (Vinck *et al.*, 2003; Karu, 2010), a inibição das respostas

inflamatórias (Xavier *et al.*, 2010; Fonseca *et al.*, 2013; Pezelj-Ribaric *et al.*, 2013) e o estímulo a síntese de DNA e proteica (Smol'yaninova *et al.*, 1991; Karu, 2010). Além disso, estudos recentes demonstram que a fototerapia tem efeitos antioxidantes (Firat, Dag, Gunay, Kaya, Karadede, Ersoz Kanay, *et al.*, 2013; Firat, Dag, Gunay, Kaya, Karadede, Kanay, *et al.*, 2013). Em conjunto, estes efeitos biológicos podem auxiliar no processo de reparo dos tecidos odontogênicos danificados pela ação da ciclofosfamida.

4.5 Fototerapia

4.5.1 Mecanismo de ação

LED é o acrônimo de *Light-Emitting Diode* (Diodo Emissor de Luz). É formado por dois tipos de materiais semicondutores: o tipo P, que é pobre em elétrons e o tipo N, que é enriquecido com elétrons. Esses semicondutores emitem luz ao reagir com uma determinada tensão aplicada. O comprimento de onda emitido e a quantidade de energia fornecida estão relacionados com a composição do semicondutor. Ao contrário do que ocorrem com o LASER, os feixes de luz do LED não apresentam coerência e colimação (BASTOS, 2009). Devido à ausência de colimação, ponteiros de acrílico são usadas no LED para colimar a luz de forma conveniente (CORAZZA, 2005). Mesmo não apresentando cavidade óptica, a banda do espectro eletromagnético gerado pelo LED é semelhante ao do LASER, porém um com uma abertura maior do espectro de banda (BASTOS, 2009). O LASER é caracterizado por uma maior concentração da fluência em uma pequena faixa espectral (660 nm +/- 5 nm). No entanto, a densidade de energia do LED está distribuída em uma banda eletromagnética maior (635 +/- 35nm), podendo interagir com um maior grupo de fotorreceptores específicos (BASTOS, 2009).

Segundo Low e colaboradores, (2001) a colimação e a coerência dos aparelhos LASER e LED diminuem e se perdem nos primeiros estratos da pele, não sendo importante para ação biológica. O fator principal para resposta celular é o comprimento de onda. O mecanismo de ação da fototerapia se baseia no comprimento de onda utilizado, do nível de energia depositado, frequência de tratamento e estado do tecido (Karu, 2010).

Na energia irradiada pelos LASERS de baixa potencia, ocorre uma conversão fotoquímica da energia absorvida por fotorreceptores específicos do tecido. Para possuir o papel biorregulador, o fotorreceptor deve ser uma estrutura chave no caminho metabólico. Os cromóforos ou fotorreceptores podem ser enzimas, componentes da membrana plasmática, citocromos mitocondriais ou uma substancia que apresenta uma configuração capaz de ser excitada pela incidência de fótons

específicos. Exemplos de fotoceptores incluem a melanina, a porfirina, a hemoglobina e a citocromo c oxidase (Karu, 2010).

Segundo Karu e colaboradores, a absorção da luz por flavinas e citocromos da cadeia respiratória mitocondrial leva a alterações no transporte de elétrons na mitocôndria o que resulta no aumento da produção de ATP (Karu, 2010). Em outro modelo, a fototerapia provoca modificações foto físicas nos canais de Ca^{+2} da membrana celular, ativando-os e induzindo a entrada de Ca^{+2} para o compartimento intracelular, que propicia o estímulo para que aconteça a proliferação celular (Breitbart *et al.*, 1996; Lubart *et al.*, 2007).

A LEDterapia no comprimento de onda de 880nm é capaz de modular respostas inflamatórias (Xavier *et al.*, 2010). Um experimento desenvolvido com ratos Wistar submetidos à tendinite induzida e após 12 horas ao tratamento com LEDterapia demonstrou que a terapia foi capaz de modular negativamente a resposta inflamatória, diminuindo o número de células inflamatórias no local da lesão (Xavier *et al.*, 2010). A fototerapia com LEDs foi capaz de diminuir a expressão de mRNA, para as citocinas inflamatórias Interleucina-1 beta (IL-1 β), IL-6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) que são fatores desencadeantes e que perpetuam a cascata inflamatória (Xavier *et al.*, 2010). Corroborando com estes resultados, os trabalhos de Fukuda e colaboradores (2012) e Pallotta e colaboradores (2012) demonstraram redução da resposta inflamatória, após realizar a simulação de uma cirurgia em camundongos (Fukuda *et al.*, 2013) e uma inflamação induzida na articulação do joelho de ratos Wistar (Pallotta *et al.*, 2012). Os efeitos da LEDterapia com comprimento de onda de 830 nm na movimentação ortodôntica promoveu um aumento da proliferação de fibroblastos e células mesenquimais indiferenciadas, ausência de edema e células de defesa demonstrando que a fototerapia promoveu o processo de cicatrização durante a movimentação ortodôntica (Abi-Ramia *et al.*, 2010). Não foi encontrado processo inflamatório característico da movimentação ortodôntica, mas uma leve hiperemia. Houve uma intensa neovascularização comparada com aos grupos controle. Além disso, a utilização da LEDterapia otimizou a movimentação ortodontia e ainda ajudou no alívio da dor gerado pela mesma (Abi-Ramia *et al.*, 2010). Estes resultados estão de acordo com os achados de Fonseca e colaboradores (2012), que demonstrou que a LEDterapia inibiu a reabsorção radicular e auxiliou no reparo tecidual do periodonto após movimentação ortodôntica experimental em ratos (Fonseca *et al.*, 2013). Um achado importante em ambos os trabalhos é a modulação negativa no processo inflamatório. A fototerapia tem a capacidade de modular vias de sinalização importantes na inflamação, associadas à produção de as citocinas e a cicloxigenases (Choi *et al.*, 2012).

Segundo Choi e colaboradores (2012), LEDtepaia possui atividade anti-inflamatória contra o patógeno *P. gingivalis*, que contém na sua membrana externa um lipossacarídeo, reconhecido por receptores tipo Toll que ativam vias que culminam no início do processo inflamatório em leucócitos. Por outro lado, os fibroblastos gengivais, que não fazem parte do sistema imune, podem interagir com

este lipossacarídeo e ativar vias do processo de inflamação. Os resultados encontrados foram uma diminuição na expressão de ciclooxigenase -2, Prostglandina E₂ e interleucinas -6 e -8, importantes no início da inflamação e na sua continuidade (Choi *et al.*, 2012).

Ferreira e colaboradores (2006) avaliaram os efeitos da LEDterapia sobre os odontoblastos. O estudo foi realizado em pré-molares de pacientes com indicação de extração. Foi confeccionado um preparo classe V e a cavidade foi irradiada com o laser de baixa potência, com comprimento de onda de 670 nm, restaurados com ionômero de vidro. Após 14 e 42 dias, os dentes foram extraídos e analisados histologicamente. Os resultados demonstraram a capacidade da LEDterapia em reduzir a inflamação desenvolvida pelo preparo cavitário e estimular a formação de dentina (Ferreira *et al.*, 2006). Especificamente, a fototerapia acelerou a formação de fibras colágenas e pontes de dentina. Colágeno tipo III e glicoproteínas como a FN e TN foram encontrados em grande quantidade nos tecidos que receberam a fototerapia. As glicoproteínas FN e TN participam ativamente na migração celular e na capacidade de mineralização da dentina. A LEDterapia auxiliou na reparação tecidual ajudando na formação de uma dentina reacional e promoveu uma resposta menos intensa do processo inflamatório (Ferreira *et al.*, 2006). Seguindo a mesma linha de pesquisa, Godoy e colaboradores (2007) utilizaram pré-molares com indicação de extração para avaliar o efeito da fototerapia sobre o complexo dentina-polpa (Godoy *et al.*, 2007). Após confeccionar um preparo conservador na oclusal dos dentes, foi aplicado, por 2 minutos, o laser de baixa intensidade com comprimento de onda de 660 nm. Os dentes foram extraídos após 28 dias. A análise em microscópio eletrônico demonstrou que no grupo tratado com a fototerapia as fibras colágenas se mostravam mais organizadas na área da pré – dentina, com menor retração dos odontoblastos, comparado com o grupo controle. Uma maior organização das fibras colágenas implica em uma maior aceleração na reparação tecidual comparada com o grupo controle. A fototerapia foi capaz também de auxiliar na produção de dentina (Godoy *et al.*, 2007).

A LEDterapia com comprimento de onda de 653nm administrada em cultura de células do complexo dentina-polpa, promoveu o aumento da atividade mitocondrial, associada a proliferação celular (Holder *et al.*, 2012). Os autores observaram que a produção de óxido nítrico, em resposta a LEDterapia pode ser um dos mecanismos que promove a regulação das enzimas ciclooxigenases, inibindo a inflamação (Holder *et al.*, 2012) . A administração de fototerapia com LEDs em comprimentos de onda de 830nm demonstra efeitos proliferativos sobre culturas de odontoblastos de camundongos, indicando que a terapia pode ter efeitos estimuladores sobre a formação da dentina (Pereira *et al.*, 2012).

A administração de laser GAIIAS com 810 nm de comprimento, na potência de 1.5 W em molares de ratos Wistar, demonstraram a formação de dentina terciária e de tecido ósseo na polpa dental. (Tate *et al.*, 2006) A formação da dentina terciária, segundo o autor, seria resultado da estimulação de odontoblastos da polpa

dental enquanto a formação de tecido ósseo na polpa seria o resultado da diferenciação de células mesenquimais de reabsorção radicular (Tate *et al.*, 2006). Utilizando o mesmo protocolo, Shigetani e colaboradores (2011) observou que a irradiação, com maior potência, induziu apoptose em odontoblastos, mas depois iniciou um processo de regeneração tecidual com uma abundante formação de dentina terciária (Shigetani *et al.*, 2011).

Toomarian e colaboradores (2012) utilizaram um laser de baixa intensidade com comprimento de onda de 808 nm para analisar o desenvolvimento da raiz de molares de ratos Wistar. Após as sessões de fototerapia, foi observado que o grupo tratado obteve um maior desenvolvimento da raiz do que o não tratado. O autor sugere que a fototerapia aumentou a produção de alcalina fosfatase, uma enzima que participa da calcificação dos tecidos, provavelmente transportando o fosfato (Toomarian *et al.*, 2012).

Os efeitos da LEDterapia em comprimento de 635nm promove a eliminação de espécies reativas de oxigênio, por um mecanismo independente da superóxido desmutase (Lim *et al.*, 2011). Os efeitos antioxidantes da fototerapia sobre tecidos bucais também foram demonstrados por Firat e colaboradores, em modelos de ratos diabéticos (Firat, Dag, Gunay, Kaya, Karadede, Ersoz Kanay, *et al.*, 2013; Firat, Dag, Gunay, Kaya, Karadede, Kanay, *et al.*, 2013).

Nenhum estudo, associando diretamente o uso de agentes alquilantes e da ciclofosfamida e a fototerapia foi encontrado nas bases de dados consultadas.

5.0 CONCLUSÃO

Os danos causados pela ciclofosfamida são amplamente abordados na literatura, com efeitos na odontogênese de dentes decíduos e permanentes. O cirurgião dentista deve estar preparado para atender pacientes pediátricos que fizeram uso dessa droga, considerando os efeitos a longo prazo observados na dentição de crianças que receberam tratamento com ciclofosfamida antes dos 12 anos de idade. A fototerapia pode se tornar uma ferramenta terapêutica para o tratamento das lesões provocadas pela ciclofosfamida na odontogênese, sendo necessário a realização de estudos experimentais e clínico para comprovar esta hipótese.

Referencias

ABI-RAMIA, L. B. et al. Effects of low-level laser therapy and orthodontic tooth movement on dental pulps in rats. **Angle Orthod**, v. 80, n. 1, p. 116-22, Jan 2010. ISSN 0003-3219 (Print)

0003-3219 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19852650> >.

ADATIA, A. K. Cytotoxicity of cyclophosphamide in the rat incisor. **Br J Cancer**, v. 32, n. 2, p. 208-18, Aug 1975. ISSN 0007-0920 (Print)

0007-0920 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1212351> >.

AFSHARIAN, P. et al. The effect of repeated administration of cyclophosphamide on cytochrome P450 2B in rats. **Clin Cancer Res**, v. 13, n. 14, p. 4218-24, Jul 15 2007. ISSN 1078-0432 (Print)

1078-0432 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17634551> >.

ANTON, E. Ultrastructural study of the effect of cyclophosphamide on the growth area of incisor teeth of DBA/2 and C57BL/6 mice. **Int J Exp Pathol**, v. 77, n. 2, p. 83-8, Apr 1996. ISSN 0959-9673 (Print)

0959-9673 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8762867> >.

ANTUNES, H. S. et al. Phase III trial of low-level laser therapy to prevent oral mucositis in head and neck cancer patients treated with concurrent chemoradiation. **Radiother Oncol**, Sep 14 2013. ISSN 1879-0887 (Electronic)

0167-8140 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24044799> >.

ARNOLD, H.; BOURSEAUX, F.; BROCK, N. Chemotherapeutic action of a cyclic nitrogen mustard phosphamide ester (B 518-ASTA) in experimental tumours of the rat. **Nature**, v. 181, n. 4613, p. 931, Mar 29 1958. ISSN 0028-0836 (Print)

0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13526741> >.

ASHRAF, K. et al. Treatment with topotecan plus cyclophosphamide in children with first relapse of neuroblastoma. **Pediatr Blood Cancer**, v. 60, n. 10, p. 1636-41, Oct 2013. ISSN 1545-5017 (Electronic)

1545-5009 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23650219> >.

BASSO, F. G. et al. In vitro wound healing improvement by low-level laser therapy application in cultured gingival fibroblasts. **Int J Dent**, v. 2012, p. 719452, 2012. ISSN 1687-8736 (Electronic)

1687-8728 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22844284> >.

BERRIGAN, M. J.; STRUCK, R. F.; GURTOO, H. L. Lipid peroxidation induced by cyclophosphamide. **Cancer Biochem Biophys**, v. 9, n. 3, p. 265-70, Sep 1987. ISSN 0305-7232 (Print)

0305-7232 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3435898> >.

BOYD, V. L. et al. ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopic observation of the intracellular transformations of oncostatic cyclophosphamide metabolites. **J Med Chem**, v. 29, n. 7, p. 1206-10, Jul 1986. ISSN 0022-2623 (Print)

0022-2623 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3543359> >.

BREITBART, H. et al. Changes in calcium transport in mammalian sperm mitochondria and plasma membrane irradiated at 633 nm (HeNe laser). **J Photochem Photobiol B**, v. 34, n. 2-3, p. 117-21, Jul 1996. ISSN 1011-1344 (Print)

1011-1344 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8810529> >.

BROCK, N.; HOHORST, H. J. Metabolism of cyclophosphamide. **Cancer**, v. 20, n. 5, p. 900-4, May 1967. ISSN 0008-543X (Print)

0008-543X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6024299> >.

BRUMMAIER, T. et al. Using cyclophosphamide in inflammatory rheumatic diseases. **Eur J Intern Med**, v. 24, n. 7, p. 590-6, Oct 2013. ISSN 1879-0828 (Electronic)

0953-6205 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23528932> >.

CHINNASWAMY, G. et al. Pharmacokinetics of cyclophosphamide and its metabolites in paediatric patients receiving high-dose myeloablative therapy. **Eur J Cancer**, v. 47, n. 10, p. 1556-63, Jul 2011. ISSN 1879-0852 (Electronic)

0959-8049 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21482104> >.

CHOI, H. et al. Inflammatory cytokines are suppressed by light-emitting diode irradiation of *P. gingivalis* LPS-treated human gingival fibroblasts: inflammatory cytokine changes by LED irradiation. **Lasers Med Sci**, v. 27, n. 2, p. 459-67, Mar 2012. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21814735> >.

CHUNG, N. G. et al. Reduced dose cyclophosphamide, fludarabine and antithymocyte globulin for sibling and unrelated transplant of children with severe and very severe aplastic anemia. **Pediatr Transplant**, v. 17, n. 4, p. 387-93, Jun 2013. ISSN 1399-3046 (Electronic)

1397-3142 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23551397> >.

COLE, B. O. et al. Dental manifestations in severe combined immunodeficiency following bone marrow transplantation. **Bone Marrow Transplant**, v. 25, n. 9, p. 1007-9, May 2000. ISSN 0268-3369 (Print)

0268-3369 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10800072> >.

CONNORS, T. A. et al. Observations on the mechanism of hydroxylation of cyclophosphamide by rat liver microsomes: the metabolism of cyclophosphamide-4-d₂. **Biomed Mass Spectrom**, v. 1, n. 2, p. 130-6, Apr 1974. ISSN 0306-042X (Print)

0306-042X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4433725> >.

DE JONGE, M. E. et al. Population pharmacokinetics of cyclophosphamide and its metabolites 4-hydroxycyclophosphamide, 2-dechloroethylcyclophosphamide, and phosphoramidate mustard in a high-dose combination with Thiotepa and Carboplatin. **Ther Drug Monit**, v. 27, n. 6, p. 756-65, Dec 2005. ISSN 0163-4356 (Print)

0163-4356 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16306851> >.

FERRANTE, M. et al. Effect of low-level laser therapy after extraction of impacted lower third molars. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 3, p. 845-9, May 2013. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22843310> >.

FERREIRA, A. N. et al. Effect of GaAlAs laser on reactional dentinogenesis induction in human teeth. **Photomed Laser Surg**, v. 24, n. 3, p. 358-65, Jun 2006. ISSN 1549-5418 (Print)

1549-5418 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16875445> >.

FIRAT, E. T. et al. The effect of low-level laser therapy on the healing of hard palate mucosa and the oxidative stress status of rats. **J Oral Pathol Med**, Aug 19 2013. ISSN 1600-0714 (Electronic)

0904-2512 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23952682> >.

FIRAT, E. T. et al. The effects of low-level laser therapy on palatal mucoperiosteal wound healing and oxidative stress status in experimental diabetic rats. **Photomed Laser Surg**, v. 31, n. 7, p. 315-21, Jul 2013. ISSN 1557-8550 (Electronic)

1549-5418 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23789588> >.

FONSECA, P. D. et al. Effects of light emitting diode (LED) therapy at 940 nm on inflammatory root resorption in rats. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 1, p. 49-55, Jan 2013. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22350492> >.

FRIEDMAN, O. M.; WODINSKY, I.; MYLES, A. Cyclophosphamide (NSC-26271)-related phosphoramidate mustards- recent advances and historical perspective. **Cancer Treat Rep**, v. 60, n. 4, p. 337-46, Apr 1976. ISSN 0361-5960 (Print)

0361-5960 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1277209> >.

FUKUDA, T. Y. et al. Infrared low-level diode laser on inflammatory process modulation in mice: pro- and anti-inflammatory cytokines. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 5, p. 1305-13, Sep 2013. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23179306> >.

FUKUSHIMA, H. et al. An infant with life-threatening hemangioma successfully treated with low-dose cyclophosphamide. **Pediatr Int**, v. 53, n. 6, p. 1073-5, Dec 2011. ISSN 1442-200X (Electronic). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22181565> >.

GODOY, B. M. et al. Effects of low-power red laser on dentine-pulp interface after cavity preparation. An ultrastructural study. **Arch Oral Biol**, v. 52, n. 9, p. 899-903, Sep 2007. ISSN 0003-9969 (Print)

0003-9969 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17485070> >.

GURTOO, H. L.; HIPKENS, J. H.; SHARMA, S. D. Role of glutathione in the metabolism-dependent toxicity and chemotherapy of cyclophosphamide. **Cancer Res**, v. 41, n. 9 Pt 1, p. 3584-91, Sep 1981. ISSN 0008-5472 (Print)

0008-5472 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7260917> >.

HALES, B. F. Comparison of the mutagenicity and teratogenicity of cyclophosphamide and its active metabolites, 4-hydroxycyclophosphamide, phosphoramidate mustard, and acrolein. **Cancer Res**, v. 42, n. 8, p. 3016-21, Aug 1982. ISSN 0008-5472 (Print)

0008-5472 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7046914> >.

HOLDER, M. J. et al. Effects of red light-emitting diode irradiation on dental pulp cells. **J Dent Res**, v. 91, n. 10, p. 961-6, Oct 2012. ISSN 1544-0591 (Electronic)

0022-0345 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22879579> >.

HOLTTA, P. et al. Agenesis and microdontia of permanent teeth as late adverse effects after stem cell transplantation in young children. **Cancer**, v. 103, n. 1, p. 181-90, Jan 1 2005. ISSN 0008-543X (Print)

0008-543X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15540242> >.

HSIEH, S. G. et al. Association of cyclophosphamide use with dental developmental defects and salivary gland dysfunction in recipients of childhood antineoplastic therapy. **Cancer**, v. 117, n. 10, p. 2219-27, May 15 2011. ISSN 0008-543X (Print)

0008-543X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21523736> >.

HUANG, I. C. et al. Association Between the Prevalence of Symptoms and Health-Related Quality of Life in Adult Survivors of Childhood Cancer: A Report From the St Jude Lifetime Cohort Study. **J Clin Oncol**, Oct 14 2013. ISSN 1527-7755 (Electronic)

0732-183X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24127449> >.

HUANG, T. H. et al. Low-level laser effects on simulated orthodontic tension side periodontal ligament cells. **Photomed Laser Surg**, v. 31, n. 2, p. 72-7, Feb 2013. ISSN 1557-8550 (Electronic)

1549-5418 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23327633> >.

HUSSEIN, A. J. et al. Effects of a low level laser on the acceleration of wound healing in rabbits. **N Am J Med Sci**, v. 3, n. 4, p. 193-7, Apr 2011. ISSN 1947-2714 (Electronic)

1947-2714 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22540090> >.

HUTCHINSON, C. et al. Treatment of small vessel primary CNS vasculitis in children: an open-label cohort study. **Lancet Neurol**, v. 9, n. 11, p. 1078-84, Nov 2010. ISSN 1474-4465 (Electronic)

1474-4422 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20889380> >.

INAGAKI, J. et al. Gonadal function in patients with severe aplastic anaemia and refractory cytopenia of childhood who undergo bone marrow transplantation after receiving 3-Gy total body irradiation and high-dose cyclophosphamide. **Br J Haematol**, v. 163, n. 1, p. 127-9, Oct 2013. ISSN 1365-2141 (Electronic)

0007-1048 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23790006> >.

INCA. Particularidades do Câncer Infantil. Disponível em:
 <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=343>. Acessado em: 08/04/2013.

KARU, T. I. Multiple roles of cytochrome c oxidase in mammalian cells under action of red and IR-A radiation. **IUBMB Life**, v. 62, n. 8, p. 607-10, Aug 2010. ISSN 1521-6551 (Electronic)

1521-6543 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20681024> >.

KIM, H. et al. Irinotecan, vincristine, cisplatin, cyclophosphamide, and etoposide for refractory or relapsed medulloblastoma/PNET in pediatric patients. **Childs Nerv Syst**, v. 29, n. 10, p. 1851-8, Oct 2013. ISSN 1433-0350 (Electronic)

0256-7040 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23748464> >.

KOPPANG, H. S. Histomorphologic investigations of dentinogenesis in incisors of offspring of cyclophosphamide-treated pregnant rats. **Scand J Dent Res**, v. 86, n. 6, p. 444-58, Dec 1978. ISSN 0029-845X (Print)

0029-845X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/284568> >.

KWON, C. H. et al. Accelerated decomposition of 4-hydroxycyclophosphamide by human serum albumin. **Cancer Res**, v. 47, n. 6, p. 1505-8, Mar 15 1987. ISSN 0008-5472 (Print)

0008-5472 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3815352> >.

LI, C. et al. A novel conditioning regimen improves outcomes in beta-thalassemia major patients using unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. **Blood**, v. 120, n. 19, p. 3875-81, Nov 8 2012. ISSN 1528-0020 (Electronic)

0006-4971 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22968457> >.

LIM, W. B. et al. Effects of 635nm light-emitting diode irradiation on angiogenesis in CoCl₂-exposed HUVECs. **Lasers Surg Med**, v. 43, n. 4, p. 344-52, Apr 2011. ISSN 1096-9101 (Electronic)

0196-8092 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21500230> >.

LIU, F. et al. The cyclophosphamide metabolite, acrolein, induces cytoskeletal changes and oxidative stress in Sertoli cells. **Mol Biol Rep**, v. 39, n. 1, p. 493-500, Jan 2012. ISSN 1573-4978 (Electronic)

0301-4851 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21553225> >.

LUBART, R. et al. A reasonable mechanism for visible light-induced skin rejuvenation. **Lasers Med Sci**, v. 22, n. 1, p. 1-3, Mar 2007. ISSN 0268-8921 (Print)

0268-8921 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17333456> >.

MARTU, S. et al. Healing process and laser therapy in the superficial periodontium: a histological study. **Rom J Morphol Embryol**, v. 53, n. 1, p. 111-6, 2012. ISSN 1220-0522 (Print)

1220-0522 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22395509> >.

MERTENS, A. C. et al. Health and well-being in adolescent survivors of early childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. **Psychooncology**, Oct 4 2013. ISSN 1099-1611 (Electronic)

1057-9249 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24123762> >.

NASMAN, M.; FORSBERG, C. M.; DAHLLOF, G. Long-term dental development in children after treatment for malignant disease. **Eur J Orthod**, v. 19, n. 2, p. 151-9, Apr 1997. ISSN 0141-5387 (Print)

0141-5387 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9183064> >.

NISHIMURA, S. et al. Risk factors to cause tooth formation anomalies in chemotherapy of paediatric cancers. **Eur J Cancer Care (Engl)**, v. 22, n. 3, p. 353-60, May 2013. ISSN 1365-2354 (Electronic)

0961-5423 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23336315> >.

PALLOTTA, R. C. et al. Infrared (810-nm) low-level laser therapy on rat experimental knee inflammation. **Lasers Med Sci**, v. 27, n. 1, p. 71-8, Jan 2012. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21484455> >.

PANHOCA, V. H. et al. Comparative clinical study of light analgesic effect on temporomandibular disorder (TMD) using red and infrared led therapy. **Lasers Med Sci**, Oct 3 2013. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24197518> >.

PASCHOAL, M. A.; SANTOS-PINTO, L. Therapeutic effects of low-level laser therapy after premolar extraction in adolescents: a randomized double-blind clinical trial. **Photomed Laser Surg**, v. 30, n. 9, p. 559-64, Sep 2012. ISSN 1557-8550 (Electronic)

1549-5418 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22870960> >.

PEREIRA, L. B. et al. Low-level laser therapy influences mouse odontoblast-like cell response in vitro. **Photomed Laser Surg**, v. 30, n. 4, p. 206-13, Apr 2012. ISSN 1557-8550 (Electronic)

1549-5418 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22375953> >.

PEZELJ-RIBARIC, S. et al. Proinflammatory cytokine levels in saliva in patients with burning mouth syndrome before and after treatment with low-level laser therapy. **Lasers Med Sci**, v. 28, n. 1, p. 297-301, Jan 2013. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22773117> >.

ROBISON, N. J. et al. A phase II trial of a multi-agent oral antiangiogenic (metronomic) regimen in children with recurrent or progressive cancer. **Pediatr Blood Cancer**, Oct 4 2013. ISSN 1545-5017 (Electronic)

1545-5009 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24123865> >.

SHIGETANI, Y. et al. GaAIIAs laser irradiation induces active tertiary dentin formation after pulpal apoptosis and cell proliferation in rat molars. **J Endod**, v. 37, n. 8, p. 1086-91, Aug 2011. ISSN 1878-3554 (Electronic)

0099-2399 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21763899> >.

SHULMAN, L. N. The biology of alkylating-agent cellular injury. **Hematol Oncol Clin North Am**, v. 7, n. 2, p. 325-35, Apr 1993. ISSN 0889-8588 (Print)

0889-8588 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8468267> >.

SMITH, R. L.; SHI, X.; ESTLIN, E. J. Chemotherapy dose-intensity and survival for childhood medulloblastoma. **Anticancer Res**, v. 32, n. 9, p. 3885-92, Sep 2012. ISSN 1791-7530 (Electronic)

0250-7005 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22993333> >.

SMOL'YANINOVA, N. K. et al. Effects of He-Ne laser irradiation on chromatin properties and synthesis of nucleic acids in human peripheral blood lymphocytes. **Biomed Sci**, v. 2, n. 2, p. 121-6, 1991. ISSN 0955-9701 (Print). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1723007> >.

STEKAR, J. Teratogenicity of cyclophosphamides in newborn rats. **Arzneimittelforschung**, v. 23, n. 7, p. 922-3, Jul 1973. ISSN 0004-4172 (Print)

0004-4172 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4800445> >.

TATE, Y. et al. Odontoblast responses to GaAlAs laser irradiation in rat molars: an experimental study using heat-shock protein-25 immunohistochemistry. **Eur J Oral Sci**, v. 114, n. 1, p. 50-7, Feb 2006. ISSN 0909-8836 (Print)

0909-8836 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16460341> >.

TOOMARIAN, L. et al. Stimulatory effect of low-level laser therapy on root development of rat molars: a preliminary study. **Lasers Med Sci**, v. 27, n. 3, p. 537-42, May 2012. ISSN 1435-604X (Electronic)

0268-8921 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21614480> >.

TRIPATHI, D. N.; JENA, G. B. Astaxanthin intervention ameliorates cyclophosphamide-induced oxidative stress, DNA damage and early hepatocarcinogenesis in rat: role of Nrf2, p53, p38 and phase-II enzymes. **Mutat Res**, v. 696, n. 1, p. 69-80, Feb 2010. ISSN 0027-5107 (Print)

0027-5107 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20038455> >.

TSUTSUI, T. W. et al. In vitro chromosome aberration tests using human dental pulp cells to detect the carcinogenic potential of chemical agents. **Odontology**, v. 94, n. 1, p. 44-50, Sep 2006. ISSN 1618-1247 (Print)

1618-1247 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16998617> >.

VACHVANICHSANONG, P.; DISSANEEWATE, P.; MCNEIL, E. Intravenous cyclophosphamide combined with steroids in pediatric onset severe lupus nephritis. **Int Urol Nephrol**, v. 45, n. 5, p. 1301-8, Oct 2013. ISSN 1573-2584 (Electronic)

0301-1623 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23225077> >.

VACHVANICHSANONG, P.; MCNEIL, E. Pediatric lupus nephritis: more options, more chances? **Lupus**, v. 22, n. 6, p. 545-53, May 2013. ISSN 1477-0962 (Electronic)

0961-2033 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23629826> >.

VAHLSING, H. L.; KIM, S. K.; FERINGA, E. R. Cyclophosphamide-induced abnormalities in the incisors of the rat. **J Dent Res**, v. 56, n. 7, p. 809-16, Jul 1977. ISSN 0022-0345 (Print)

0022-0345 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/269161> >.

VAUGHAN, M. D. et al. Dental abnormalities in children preparing for pediatric bone marrow transplantation. **Bone Marrow Transplant**, v. 36, n. 10, p. 863-6, Nov 2005. ISSN 0268-3369 (Print)

0268-3369 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16184186> >.

VINCK, E. M. et al. Increased fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation. **Lasers Med Sci**, v. 18, n. 2, p. 95-9, 2003. ISSN 0268-8921 (Print)

0268-8921 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12928819> >.

XAVIER, M. et al. Anti-inflammatory effects of low-level light emitting diode therapy on Achilles tendinitis in rats. **Lasers Surg Med**, v. 42, n. 6, p. 553-8, Aug 2010. ISSN 1096-9101 (Electronic)

0196-8092 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20662032> >.

XIE, H. et al. Cyclophosphamide induces mRNA, protein and enzyme activity of cytochrome P450 in rat. **Xenobiotica**, v. 35, n. 3, p. 239-51, Mar 2005. ISSN 0049-8254 (Print)

0049-8254 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16019949> >.

YANG, X. et al. Cyclophosphamide-induced apoptosis in A431 cells is inhibited by fucosyltransferase IV. **J Cell Biochem**, v. 112, n. 5, p. 1376-83, May 2011. ISSN 1097-4644 (Electronic)

0730-2312 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21337384> >.