

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NATÁLIA SCHEPANSKI

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CLÍNICOS DA FOTOBIOMODULAÇÃO E DO
BETANECOL NA QUANTIDADE E QUALIDADE DA SALIVA EM PACIENTES
SUBMETIDOS À RADIOTERAPIA EM REGIÃO DE CABEÇA E PESCOÇO

CURITIBA

2023

NATÁLIA SCHEPANSKI

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CLÍNICOS DA FOTOBIMODULAÇÃO E DO
BETANECOL NA QUANTIDADE E QUALIDADE DA SALIVA EM PACIENTES
SUBMETIDOS À RADIOTERAPIA EM REGIÃO DE CABEÇA E PESCOÇO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Odontologia,
nível Mestrado, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná,
como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia, área
de concentração Estomatopatologia.

Orientadora: Profa. Dra. Melissa Rodrigues de Araujo

CURITIBA

2023

Schepanski, Natália

Avaliação dos efeitos clínicos da fotobiomodulação e do Betanecol na quantidade e qualidade da saliva em pacientes submetidos à radioterapia em região de cabeça e pescoço [recurso eletrônico] / Natália Schepanski – Curitiba, 2023.

1 recurso online : PDF

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientador: Profa. Dra. Melissa Rodrigues de Araujo

1. Xerostomia. 2. Radioterapia. 3. Saliva. 4. Compostos de Betanecol. 5. Lasers.
I. Araujo, Melissa Rodrigues de. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD 617.522



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ODONTOLOGIA -
40001016065P8

ATA Nº184

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE MESTRADO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRA EM ODONTOLOGIA

No dia vinte e seis de abril de dois mil e vinte e tres às 14:00 horas, na sala Virtual, Plataforma Teams, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de dissertação da mestranda **NATALIA SCHEPANSKI**, intitulada: **Avaliação dos efeitos clínicos da fotobiomodulação e do betanecol na quantidade e qualidade da saliva em pacientes submetidos à radioterapia em região de cabeça e pescoço**, sob orientação da Profa. Dra. MELISSA RODRIGUES DE ARAUJO. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ODONTOLOGIA da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: MELISSA RODRIGUES DE ARAUJO (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), JOSÉ MIGUEL AMENÁBAR CÉSPEDES (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), ALYNE SIMOES GONCALVES (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de mestra está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, MELISSA RODRIGUES DE ARAUJO, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

CURITIBA, 26 de Abril de 2023.

Assinatura Eletrônica

02/05/2023 23:04:11.0

MELISSA RODRIGUES DE ARAUJO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

02/05/2023 11:43:54.0

JOSÉ MIGUEL AMENÁBAR CÉSPEDES

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

02/05/2023 13:54:26.0

ALYNE SIMOES GONCALVES

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO)

Av. Prof. Lothário Meissner, 632 - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 80210-170 - Tel: (41) 3360-4134 - E-mail: posodontoufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 280545

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 280545



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ODONTOLOGIA -
40001016065P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ODONTOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **NATALIA SCHEPANSKI** intitulada: **Avaliação dos efeitos clínicos da fotobiomodulação e do betanecol na quantidade e qualidade da saliva em pacientes submetidos à radioterapia em região de cabeça e pescoço**, sob orientação da Profa. Dra. MELISSA RODRIGUES DE ARAUJO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 26 de Abril de 2023.

Assinatura Eletrônica

02/05/2023 23:04:11.0

MELISSA RODRIGUES DE ARAUJO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

02/05/2023 11:43:54.0

JOSÉ MIGUEL AMENÁBAR CÉSPEDES

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

02/05/2023 13:54:26.0

ALYNE SIMOES GONCALVES

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO)

Av. Prof. Lothário Meissner, 632 - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 80210-170 - Tel: (41) 3360-4134 - E-mail: posodontoufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 280545

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 280545

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, gostaria de agradecer a Deus pela vida, saúde e força durante toda essa caminhada.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade em realizar o meu mestrado em uma instituição tão renomada e especial onde iniciei minha caminhada desde a graduação. Agradeço aos professores que ali atuam, em especial à que foi a primeira orientadora da minha vida acadêmica, ainda na graduação, a Prof^ª Melissa, por ter me escolhido dentre outros candidatos para poder ingressar no programa, por ser tão dedicada e paciente em todos os momentos, por conseguir transmitir tanto conhecimento e por ter confiado e acreditado em mim ao longo de toda minha trajetória acadêmica.

Aos colegas de mestrado que dividiram as preocupações e aflições, e que assim tornaram as aulas e trabalhos um pouco mais leves.

Gostaria de agradecer ao Hospital Erasto Gaertner por todo o apoio para a realização desse trabalho, local de ajuda ao próximo e de suma importância na vida dos pacientes que possuem algum tipo de neoplasia. Uma instituição que contribui não só no tratamento dessas doenças, bem como na qualidade da vida dos pacientes atendidos. Agradecemos também à farmácia de manipulação Magistral que nos concedeu o medicamento para que este estudo fosse viável.

E por fim e mais importante, minha família, minha base! Meus amados pais, Andreia e Gerson, que sempre me apoiaram, que nunca mediram esforços para me proporcionar o melhor, e que sempre me incentivaram a estudar e a crescer. Minha eterna e imensa gratidão. A meu irmão, Gabriel, por ser exemplo de dedicação, determinação, esforço e que com fé sempre chegamos onde queremos. Ao meu amor, Rodrigo, que tanto me apoiou e acreditou em mim. Nenhum dos passos que dei até hoje, seriam possíveis sem vocês.

E nesse momento com o coração cheio de gratidão, agradeço imensamente a todos que trilharam esse caminho comigo, de alguma forma, e por tornarem isso possível!

RESUMO

A radioterapia (RT) é uma das principais modalidades de tratamento do carcinoma espinocelular em região de cabeça e pescoço. A hipossalivação é uma sequela importante que acomete os pacientes submetidos à radioterapia nesta região, nos quais os feixes de radiação atingem as glândulas salivares. A redução do fluxo salivar desencadeia outras consequências, como aumento na incidência de cáries, disgeusia, disfagia e dificuldade de fonação. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da fotobiomodulação (PBM) e do medicamento Betanecol quanto a xerostomia, fluxo e constituintes salivares de pacientes em tratamento radioterápico em região de cabeça e pescoço. A amostra foi obtida por conveniência, composta por pacientes em tratamento radioterápico (média 66Gy) e dividida aleatoriamente em Grupo Betanecol (n = 31) e Grupo PBM (n = 29). O medicamento betanecol foi utilizado de forma manipulada e o protocolo de uso foi de 1 cápsula de 25 mg, 2 vezes ao dia. Os pacientes do Grupo PBM receberam de 15 a 20 sessões de PBM (2 a 3 sessões/semana), em cada sessão foram irradiados 22 pontos extra-orais (780nm, 100mW, 4J/ponto) e 56 intra-orais (660nm, 100mW, 0,5J/ponto). Ambos os grupos iniciaram a terapia (PBM ou Betanecol) no primeiro dia da RT e terminaram juntamente com a última sessão de RT. A saliva foi coletada de forma estimulada e o fluxo salivar (ml/min) foi obtido. A mensuração do pH foi realizada imediatamente após a coleta com o uso de um pHmetro. A sensação de boca seca foi avaliada com auxílio de uma escala analógica visual (0-10). Os constituintes salivares, elementos-traço Al, As, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, K, Li, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Sb, Se, Sr, Ti, V, Zn foram avaliados por espectrometria (ICP OES e MS). Todos esses parâmetros foram avaliados em 2 momentos, antes de iniciar a radioterapia (pré-RT) e após finalizar todas as sessões de radioterapia (pós-RT). Não houve redução significativa do fluxo salivar nos dois grupos estudados após a RT e não houve diferença entre os grupos PBM e Betanecol ($p=0.0626$). Em relação ao pH e a xerostomia também não houve diferença estatística significativa entre os tempos pré e pós RT e entre as duas terapias ($p=0.0937$ e $p=0.1815$, respectivamente). Observou-se aumento na concentração somente dos elementos-traço Cr, Mg, V e P em ambos os grupos. A fotobiomodulação e o betanecol foram eficazes em manter a quantidade e qualidade da saliva durante a radioterapia em região de cabeça e pescoço.

Palavras-chave: xerostomia; radioterapia; saliva; compostos de betanecol; lasers.

ABSTRACT

Radiotherapy (RT) is the main treatment modalities for squamous cell carcinoma in the head and neck region. Hyposalivation is an important sequela that affects patients undergoing radiotherapy in this region, in which the radiation beams reach the salivary glands. The reduction in salivary flow triggers other consequences, such as an increase in the incidence of caries, dysgeusia, dysphagia and difficulty in phonation. The objective of this study was to evaluate the effect of photobiomodulation (PBM) and Bethanecol in xerostomia, salivary flow and saliva constituents of patients undergoing radiotherapy in the head and neck region. The sample was obtained by convenience, consisting of patients undergoing radiotherapy (mean 66Gy) and randomly divided into Bethanecol Group (n = 31) and PBM Group (n = 29). The drug Bethanecol was used in a compounded form and the protocol was 1 capsule of 25 mg, 2 times a day. Patients in the PBM Group received between 15 and 20 sessions of PBM (2 to 3 sessions/week), in each session, 22 extra-oral points (780nm, 100mW, 4J/point) and 56 intra-oral points (660nm, 100mW, 0.5J/point) were irradiated. Both groups started therapy (PBM or Bethanecol) on the first day of RT and ended it together with the last RT session. Stimulated saliva was collected and salivary flow (ml/min) was obtained. The pH measurement was performed immediately after collection using a pH meter. Xerostomia was assessed using a visual analogue scale (0-10). Saliva trace elements Al, As, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, K, Li, Mg, Mn, Mo, P, Pb, S, Sb, Se, Sr, Ti, V, Zn were evaluated by spectrometry (ICP OES and MS). All these parameters were evaluated in 2 moments, before starting radiotherapy (pre-RT) and after all radiotherapy sessions (post-RT). There was no significant decrease in salivary flow in the two groups studied after RT and there was no difference between the PBM and Bethanecol groups (p=0.0626). Regarding pH and xerostomia, there was also no statistically significant difference between pre and post radiotherapy and between the two therapies (p=0.0937 and p=0.1815, respectively). There was an increase in Cr, Mg, V and P salivary trace elements in both groups. Photobiomodulation and Bethanecol were effective in maintaining quantity and quality of saliva during head and neck radiotherapy.

Key words: xerostomia; radiotherapy; saliva; bethanechol compounds; lasers.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	09
2 PROPOSIÇÃO	
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
4 RESULTADOS.....	15
5 DISCUSSÃO.....	18
6 CONCLUSÃO.....	23
7 REFERÊNCIAS.....	23
8 MATERIAL SUPLEMENTAR.....	27
ANEXO 1 – Ficha clínica do projeto	
ANEXO 2 - Análise Bioquímica das Amostras	

INTRODUÇÃO

O câncer de boca tem como uma das modalidades de tratamento a radioterapia (RT). Esta forma de manejo é feita seguindo a classificação de estadiamento TNM, avaliando em sequência a extensão do tumor primário, os linfonodos e a presença ou ausência de metástase (ALMANGUSH et al., 2020). A radiação ionizante em região de cabeça e pescoço tem como consequência alterações em mucosa oral (mucosite oral), em glândulas salivares (hipossalivação, sensação de boca seca e alteração da composição salivar) e nas papilas gustativas (perda parcial ou total do paladar) (SIMÕES et al., 2009; SALEH et al., 2014; MERCADANTE et al., 2017).

A xerostomia ou sensação subjetiva de secura bucal é um dos sintomas mais frequentes, desenvolvido por 100% dos pacientes durante e após a radioterapia (RT) em região de cabeça e pescoço (JELLEMA et al., 2007; MALALLAH et al., 2018). De acordo com Saleh et al. (2014) e Mercadante et al. (2017), a hipossalivação aumenta o risco de infecções orais, causa alterações na fala, no paladar, na mastigação e na deglutição com significativo impacto na qualidade de vida dos pacientes.

As glândulas salivares são sensíveis à radiação, por isso danos são comuns durante o tratamento com radioterapia e podem ser irreversíveis, pois levam a uma perda da função glandular. Segundo Li et al. (2022) esta perda pode estar relacionada a danos no DNA, perda do número de células acinares, aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) ou diminuição da capacidade de proliferação e quando a hipossalivação ocorre em estágios posteriores a RT pode estar associada a alterações nos vasos sanguíneos e fibrose glandular por exemplo (Li et al., 2022).

A saliva total é uma mistura complexa e importante de fluídos contendo principalmente água, além de pequenas substâncias orgânicas, proteínas, peptídeos, polinucleotídeos, fluido gengival e restos de microorganismos. Ainda, é composta também por uma variedade de íons, incluindo o Na, K, Ca e Zn por exemplo. A maioria destes componentes são elementos traços, ou seja, são encontrados em baixíssimas concentrações no organismos mas que participam de muitas funções importantes como proteção dos dentes e hidratação dos tecidos orais permitindo a fala e deglutição (NGAMCHUEA et al., 2018; KUBALA et al., 2018).

A composição da saliva pode sofrer variações e refletir a condição clínica do paciente (ROSA et al., 2021). K, Na, Ca, Cl e P são os oligoelementos mais encontrados e concentrados na saliva devido à sua importância para o equilíbrio eletrolítico desse fluido (SAAVEDRA et al., 2022). Desta forma, esses elementos inorgânicos podem ser utilizados como objeto de estudo auxiliando a diagnosticar problemas dentários como

cáries, alterações sistêmicas da saúde em geral, também a progressão da doença (ROSA et al., 2021).

A saliva pode conter agentes anticancerígenos ou associados ao câncer que regulam vários mecanismos, por exemplo os eletrólitos Mg (SAAVEDRA et al., 2022) ou Cu e Zn em menor teor podem ser encontrados em pacientes com câncer de cabeça e pescoço (SHETTY et al., 2015).

Imediatamente após a RT o fluxo salivar sofre uma diminuição importante (JELLEMA et al., 2007; SIMÕES et al., 2009; SALEH et al., 2014; MERCADANTE et al., 2017; MALALLAH et al., 2018; COTOMACIO et al., 2017; LI et al., 2022; LIN et al., 2022). Lin et al. (2022) mostraram que o fluxo salivar reduziu para 37% do nível pré-RT e após um período de 18 meses houve uma discreta recuperação parcial para 59% do pré-RT.

Ainda não há uma terapia totalmente eficaz para prevenir ou tratar a hipossalivação e a xerostomia induzidas pela radioterapia (COTOMACIO et al., 2017). Dentre as abordagens terapêuticas citadas na literatura que visam amenizar os sintomas da hipossalivação, estão a saliva artificial, medicamentos (Pilocarpina e Betanecol) e a terapia de fotobiomodulação (PBM) (JHAM et al., 2007; JAGUAR et al., 2015; MALALLAH et al., 2018; GONZÁLEZ-ARRIAGADA et al., 2018; BRZAK et al., 2018; LOUZEIRO et al., 2020; MERCADANTE et al., 2021).

Os resultados do uso da pilocarpina no tratamento da hipossalivação são divergentes na literatura. Alguns estudos mostraram redução na intensidade da xerostomia e hipossalivação (BARBE, 2017; MERCADANTE et al., 2017), enquanto outros autores não observaram diferença na xerostomia e melhora do fluxo salivar e concluem que o efeito pode ser semelhante ao placebo ou ainda as evidências são insuficientes (FUERTES et al., 2004; RILEY et al., 2017; PEREIRA et al., 2020). O cloreto de Betanecol é um agonista colinérgico e apresenta mecanismo de ação similar ao da pilocarpina, aumentando a função glandular por meio do estímulo dos receptores muscarínicos e nicotínicos. Entretanto, esta droga parece atuar em receptores mais seletivos principalmente o M3, não ativando os adrenoreceptores $\alpha 1$ e β , apresenta atividade prolongada pois é mais resistente a hidrólise por colinesterases e tem menor custo em relação a Pilocarpina (JHAM et al., 2007; JAGUAR et al., 2015; COTOMACIO et al., 2017). O uso do Betanecol concomitante a RT para tratamento da disfunção das glândulas salivares confere melhora dos sintomas da xerostomia, atuando como agente protetor e estimulante glandular com menos efeitos colaterais (COTOMACIO et al., 2017; KAVITHA et al., 2017).

O uso da PBM no manejo da hipossalivação se demonstra eficaz por promover a modulação do metabolismo celular por meio do aumento de ATP mitocondrial que transforma a luz do laser em energia útil para a célula (BRZAK et al., 2018; GONZÁLEZ-ARRIAGADA et al., 2018; LOUZEIRO et al., 2020; MERCADANTE et al., 2021), resultando em um efeito que estimula a manutenção das células das glândulas salivares em função, mantendo assim a produção salivar (PALMA et al., 2017).

Diante das vantagens do uso do Betanecol comparado à pilocarpina, e ao mesmo tempo, de escassos estudos que utilizaram a droga até o momento, esse estudo visa comparar o efeito da PBM ao do Betanecol na qualidade e quantidade de saliva em indivíduos durante o tratamento radioterápico em região de cabeça e pescoço.

PROPOSIÇÃO

Objetivo geral

Comparar o efeito da PBM com o efeito do medicamento Betanecol na quantidade e qualidade da saliva de pacientes em tratamento radioterápico em região de cabeça e pescoço.

Objetivos específicos

- Avaliar a sensação de boca seca antes e após o uso do Betanecol e da aplicação da PBM durante o tratamento radioterápico
- Avaliar o fluxo salivar antes e após o uso do Betanecol e da aplicação da PBM durante o tratamento radioterápico
- Avaliar o pH salivar antes e após o uso do Betanecol e da aplicação da PBM durante o tratamento radioterápico
- Avaliar os elementos-traço presentes na saliva antes e após o uso do Betanecol e da PBM durante o tratamento radioterápico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Erasto Gaertner (Número - 4.931.012), e o consentimento informado para participação no estudo foi obtido de todos os participantes.

Amostra

A amostra foi obtida por conveniência, composta por pacientes tratados por radiação ionizante na região cérvico-facial, atingindo as glândulas salivares no Hospital Erasto

Gaertner, Curitiba, Paraná. Foram excluídos os pacientes que sofreram remoção cirúrgica de glândulas salivares. Todos os pacientes utilizaram a mesma modalidade de radioterapia, o IMRT, e a dose de radiação não foi critério de exclusão, visto que a maioria desses pacientes recebem doses totais muito semelhantes.

Durante o período do estudo, os pacientes foram recrutados e alocados de forma aleatória em dois grupos: Grupo Betanecol ou Grupo PBM .

Grupo Betanecol:

- O medicamento betanecol foi utilizado de forma manipulada, como cápsula.
- O protocolo de uso foi de 1 comprimido de 25 mg, 2 vezes ao dia, administrado ao longo do tratamento radioterápico (início no primeiro dia da RT e término na última sessão de RT). (JAGUAR et al., 2015).
- Os pacientes em uso do medicamento poderiam ser atendidos pelos dentistas residentes do hospital Erasto Gaertner para fotobiomodulação somente em lesões de mucosite oral durante o curso do tratamento com RT.

Grupo PBM :

- Os pacientes receberam entre 15 e 20 sessões de fotobiomodulação (2 a 3 sessões/semana) iniciando e terminando juntamente com o tratamento radioterápico, conforme protocolo descrito abaixo.

Aplicação da PBM

O equipamento de laser de baixa intensidade utilizado foi o Therapy EC[®] (DMC Imp e Exp. De Equipamentos; São Carlos, São Paulo, Brasil).

A irradiação com laser foi realizada no modo de onda contínua e de forma pontual. A ponta do equipamento foi mantida perpendicular em contato com a pele/mucosa dos pacientes durante as aplicações.

A ponta ativa do aparelho laser foi previamente envolta por um saco plástico transparente fino bem esticado e limpo, evitando assim perdas de energias pela refração ou absorção da luz. O tempo total de duração a cada sessão foi em média 25 minutos.

Os locais de aplicação e os parâmetros de irradiação utilizados em cada sessão estão descritos nos quadros 1 e 2.

Quadro 1: Aplicação da PBM em glândulas salivares maiores.

Região anatômica	Exposição	Comprimento de onda	Dose por ponto
Glândulas Parótidas	8 pontos extraorais	Infravermelho (780nm)	4J/ponto – 100mW (40 segundos/ponto)
	10 pontos intraorais	Vermelho (660nm)	0,5J/ponto - 100 mw (5 segundos/ponto)
Glândulas Submandibulares	3 pontos extraorais	Infravermelho (780nm)	4J/ponto - 100mW (40 segundos/ponto)
Glândulas Sublinguais	3 pontos intraorais	Vermelho (660nm)	0,5J/ponto - 100mW (5 segundos/ponto)

Quadro 2: Aplicação da PBM em glândulas salivares menores.

Região anatômica	Exposição	Comprimento de onda	Dose por ponto
Mucosa Labial	4 pontos intraorais em mucosa superior e inferior	Vermelho (660nm)	0,5J/ponto - 100 mw (5 segundos/ponto)
Fundo de vestibulo	4 pontos intraorais superior e inferior	Vermelho (660nm)	0,5J/ponto - 100 mw (5 segundos/ponto)
Palato mole	6 pontos intraorais	Vermelho (660nm)	0,5J/ponto - 100 mw (5 segundos/ponto)
Língua	4 pontos intraorais (cada lado)	Vermelho (660nm)	0,5J/ponto - 100 mw (5 segundos/ponto)

Coleta de dados

As variáveis como sexo, idade, localização e estadiamento do tumor, e dose de radiação foram coletadas dos prontuários dos pacientes e anotadas em ficha clínica específica (anexo 1).

Os pacientes foram orientados ao longo do tratamento quanto à higiene oral e hidratação da mucosa (por meio da ingestão frequente de água), e aconselhados a evitar o consumo de alimentos picantes e cítricos, bem como bebidas alcoólicas e tabaco. Para a coleta de saliva os pacientes foram instruídos a não ingerir alimentos ou beber, não usar cosméticos nos lábios, e não fumar ou sofrer estresse físico 1 h antes do procedimento (SALEH et al., 2014).

A amostra de saliva estimulada foi coletada no período das 8:00 às 11:00 da manhã, antes de iniciar a radioterapia (pré-RT) e após finalizar todas as sessões de radioterapia (pós-RT). Com o auxílio de um pedaço de mangueira de látex estéril para estimular a produção de saliva por meio da mastigação como um chicletes, durante o primeiro minuto os pacientes foram orientados a deglutir a saliva produzida, sempre segurando o pedaço de mangueira fora da boca preso por um fio dental e nos 5 minutos

seguintes o conteúdo recolhido foi depositado em um frasco previamente pesado em balança de precisão (Bel Engineering[®], Monza, Itália).

A medida do pH foi realizada imediatamente após a coleta da amostra (à temperatura ambiente) com o uso de um pHmetro (Phtek[®] - phmetro PHS 3B, Curitiba, Brasil). As amostras foram mantidas em gelo durante o transporte até o armazenamento em freezer a -20 graus Celsius no Laboratório de Histopatologia do curso de Odontologia da UFPR.

Avaliação da sensação de boca seca/xerostomia

A sensação de boca seca foi avaliada nos pacientes em 2 momentos, antes de iniciar a radioterapia (pré-RT) e após finalizar todas as sessões de radioterapia (pós-RT), com auxílio de uma escala analógica visual (VAS), variando a intensidade de 0 como ausência total a 10 como o pior sensação de boca seca (Figura 1).

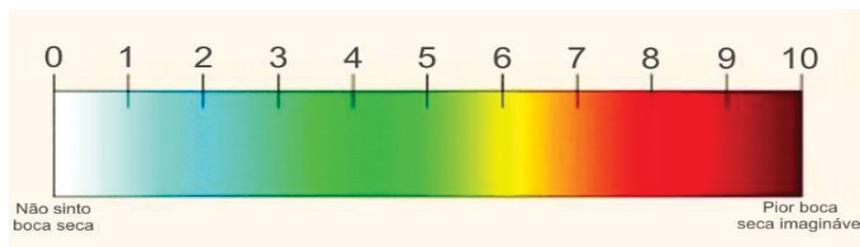


Figura 1 - Escala Visual Analógica utilizada para avaliar a sensação de boca seca.

Avaliação Sialométrica

Para a verificação do fluxo salivar os potes de coleta foram pesados em balança de precisão (Bel Engineering[®], Monza, Itália) antes e após a coleta de saliva e transformados em mL/min, considerando a densidade de 1 g/ml pelo fato da saliva ser composta em mais de 90% por água (BANDERAS et al., 1997). O método de escolha foi a técnica de cuspir que é simples e fácil de ser reproduzida e entre a correlação das determinações de fluxo por peso ou volume (Navazesh et al., 1982).

Análise Sialoquímica

A análise bioquímica foi realizada por meio da Espectroscopia atômica, na qual é possível determinar elementos-traço na saliva. As determinações dos elementos inorgânicos foram realizadas no Laboratório da Embrapa no Espectrômetro ICP-OES para os macroelementos Ca, K, Mg e ICP-MS para os analitos Al, As, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, P, Pb, S, Sb, Se, Sr, Ti, V, Zn, que é mais sensível sendo possível a

detectação mesmo em concentrações muito baixas destes. Estas técnicas se baseiam na emissão espontânea de fótons de átomos e íons que foram excitados em uma descarga de radio frequência. Os elementos-traço foram avaliados de acordo com a metodologia realizada por Rosa et al. (2021). (Metologia detalhada no anexo 2).

Análise Estatística

O fluxo salivar, a xerostomia e o pH foram avaliados antes e após a RT nos grupos PBM e Betanecol. A xerostomia ou sensação de boca seca foi avaliada por meio da escala visual analógica (VAS).

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelos testes de Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk. Dados paramétricos foram analisados por ANOVA de duas vias seguida por pos hoc Bonferroni ou Sidak. Variáveis categóricas foram analisadas pelo teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Dados não paramétricos foram analisados por Kruskal-Wallis.

Um valor de $p < 0.05$ foi considerado significativo. Foi utilizado o programa GraphPad Prism versão 8.

RESULTADOS

Este estudo prospectivo teve um período de duração de 2 anos e selecionou 68 pacientes elegíveis, no entanto 8 foram excluídos porque não concluíram todos os procedimentos ou foram a óbito durante o tratamento. A amostra de conveniência foi composta por 60 pacientes com histórico de câncer de cabeça e pescoço e divididos em 2 grupos controlados: Grupo Betanecol ($n = 31$) ou Grupo PBM ($n = 29$).

Os dados demográficos estão apresentados na tabela 1, que mostra marcante homogeneidade em relação às variáveis nos grupos betanecol e PBM pelo controle dos indivíduos nos 2 grupos, sem diferenças estatísticas. A idade dos pacientes da amostra variou de 25 a 85 anos, com média de 60,5 anos. A maioria era do sexo masculino (81,67%). A localização mais frequente do tumor foi em cavidade oral, principalmente em língua para ambos os grupos, seguida de laringe e depois os tumores de faringe que compreenderam nasofaringe, orofaringe e tonsilas palatinas e na maioria dos casos em estágios mais avançados (III e IV).

Tabela 1. Características demográficas, dose de radiação, estágio e localização tipo de tumor.

	PBM	Betanecol	p value
Idade (média ± SD) #	59,10±14,32	61,61±8,64	0,37
Sexo n(M/F) *	29(22/7)	31(27/4)	0,26
Tabagismo (n) *	Sim: 11 Ex: 11 Nunca: 7	Sim: 12 Ex: 14 Nunca: 3	0,36
Etilismo (n) *	Sim: 5 Ex: 12 Nunca: 12	Sim: 4 Ex: 10 Nunca: 15	0,73
Dose de radiação (n) ^	60-69: 16 70: 11 N/A: 2	60-69:16 70:13	0,79
Estágio do tumor*	I: 5 II: 6 III: 8 IV: 8 N/A: 2	I: 5 II: 5 III: 8 IV: 11	0,92
Localização do tumor*	Laringe: 7 Orofaringe: 6 Cavidade oral: 16	Laringe: 11 Orofaringe: 5 Cavidade oral: 15	0,62
Quimioterapia*	Sim:20 Não:8 N/A:1	Sim:20 Não:11	0,49

#Distribuição normal; teste t de Student; *qui-quadrado; ^Teste exato de Fisher

Em seguida, a tabela 2 mostra que não houve redução estatisticamente significativa do pH e do fluxo salivar nos dois tratamentos após a radioterapia e não houve diferença com relação ao tratamento empregado. Houve uma redução do fluxo salivar de aproximadamente 40 por cento no grupo PBM e 30 por cento no betanecol.

Na tabela 3 os dados da variável xerostomia não apresentaram diferença na sensação de boca seca pré e pós radioterapia nos dois tratamentos realizados, PBM e betanecol.

Tabela 2. Avaliação do pH e fluxo salivar nos grupos Betanecol e PBM pré e pós-RT.

Variável	Momento	PBM (n=28)	Betanecol (n=31)	ANOVA	F-valor	p-valor
Fluxo salivar (mL/min)	Pré-RT	0,89±0,83	0,93±0,63	Tempo	3,61	0,06
	Pós-RT	0,54±0,61	0,65±0,52	Tratamento	0,33	0,56
				Interação	1,55	0,21
pH	Pré-RT	8,06±1,18	8,13±1,03	Tempo	2,90	0,09
	Pós-RT	7,85±1,32	7,74±1,35	Tratamento	0,01	0,94
				Interação	0,25	0,61

Dados expressos em média ± desvio padrão.

Tabela 3. Avaliação da Xerostomia nos grupos Betanecol e PBM.

	PBM	Betanecol
Pré-RT(média ± SE)	2,44±0,49	2,03±0,36
Pós-RT(média ± SE)	3,17±0,50	3,48±0,52

Análise: Kruskal-Wallis: p=0.1420 SE: erro padrão.

As tabelas 4 e 5 apresentam os componentes da parte inorgânica da saliva, representada pelas concentrações ($\mu\text{g/L}$) dos elementos-traço analisados apresentaram diferença estatística significante. Houve aumento na concentração apenas do íon Cr no grupo betanecol e a diminuição do P no grupo PBM, os íons S e V, após a realização do pós teste Dunn, a diferença não existe, ou seja, realmente não há diferença estatística. A maior parte dos íons analisados (Al, As, Bi, Ca, Cd, Co, Cu, K, Li, Mn, Mg, Mo, Pb, S, Sb, Se, Sr, Ti, V, Zn) não mostraram diferença estatisticamente significante com relação ao tempo avaliado (pré-RT e pós-RT) e com relação ao tratamento (Betanecol ou PBM) (Anexo S3). Houve uma variação do número de amostras (n) analisado em cada elemento-traço, variando de 11 a 26 no grupo laserterapia e de 10 a 30 no grupo Betanecol.

Tabela 4. Concentração dos elementos-traço salivares ($\mu\text{g/L}$) com diferença estatística nos grupos Betanecol e PBM pré-RT e pós-RT.

Variável	PBM Pré-RT	PBM Pós-RT	Betanecol Pré-RT	Betanecol Pós-RT	p-valor
Cr* Média ±SE	7.28±1.11 ^A B	12.35±4.86 ^{AB}	5.57±0.58 ^A	9.98±1.66 ^B	0.03 0.02*
P[^] Média±SD	134.5±57.4 5 ^A	92.58±48.57 ^B	155.6±69.11 ^A B	133.5±92.90 ^{AB}	0.01
S[^] Média±SD	98.03±172. 3	102.5±76.92	62.71±42.07	88.91±79.83	**
V* Média ±SE	23.20±2.34	27.92±341	22.04±1.70	28.16±2.31	0.04 NS**

*Dados com distribuição anormal, analisados por Kruskal-Wallis. Em caso de diferença, foi realizado pós teste de Dunn

[^]Dados com distribuição anormal, transformados e analisados por ANOVA de duas vias com pós teste de Sidak; #Valor de p da interação.

** Dados descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Avaliação estatística dos componentes inorgânicos salivares P e S ($\mu\text{g/L}$) nos grupos Betanecol e PBM.

Variável	Momento	Laser	Betanecol	ANOVA	F-valor	p-valor
P	Pré-RT	134.5 \pm 57.45*	155.6 \pm 69.11	tempo	11.20	0.00
	Pós-RT	92.58 \pm 48.57*	133.5 \pm 92.90	tratamento	6.86	0.01
				Interação	0.49	0.48
S*	Pré-RT	98.03 \pm 172.3	62.71 \pm 42.07	tempo	3.94	0.04
	Pós-RT	102.5 \pm 76.92	88.91 \pm 79.83	tratamento	1.41	0.23
				Interação	0.13	0.71

Dados analisados por ANOVA de duas vias com pos teste de Sidak. *sem diferença no pós teste.

DISCUSSÃO

O CEC é a neoplasia maligna mais comum em região de cabeça e pescoço, geralmente observado em pessoas com idade acima de 40 anos. Os homens têm risco de 2 a 4 vezes maior do que as mulheres para o desenvolvimento desta neoplasia (CHAMOLI et al., 2021). Neste estudo foram incluídos 60 pacientes e os dados sociodemográficos corroboram com a literatura, não havendo diferença na média de idade entre os grupos (60,4 anos) e o sexo masculino sendo o mais prevalente em ambos os grupos estudados (>70%).

A radioterapia é uma das modalidades de tratamento padrão para as neoplasias malignas que pode ser empregada em associação com a cirurgia e/ou quimioterapia (MERCADANTE et al., 2017). A dose de radiação empregada influencia na ocorrência dos efeitos colaterais, promovendo alterações nos tecidos orais e na função das glândulas salivares (PEDERSEN et al., 2018). Neste estudo 64% dos pacientes estavam com a doença em estágio tumoral mais avançado (T3/T4) e a maioria recebeu uma dose entre 60 a 69 Gy, sendo a dose total media de RT de 66,3 Gy entregue geralmente em 33 frações. Deasy et al. (2010) relataram que com a dose média de até 15 Gy o paciente tem uma redução mínima da função das glândulas salivares. No entanto, essa perda aumenta gradualmente conforme a dose aplicada e doses maiores do que 40 Gy levam a uma importante redução da função das glândulas salivares, geralmente em 75%. A taxa de renovação tecidual das glândulas salivares é lenta, desta forma, a disfunção salivar já se inicia na primeira semana de tratamento. Doses de radiação superiores a 60 Gy geralmente levam a hipofunção das glândulas salivares irreversível, enquanto doses entre 30 e 50 Gy podem causar uma xerostomia reversível (PEDERSEN et al., 2018).

A hipossalivação é uma seqüela importante e acomete 100% dos pacientes submetidos à radioterapia em região de cabeça e pescoço em que os feixes de radiação atingem as glândulas salivares (JELLEMA et al., 2007; MALALLAH et al., 2018). A redução do fluxo salivar desencadeia outras consequências como aumento na incidência de cáries, dificuldade de fonação e alimentação e alterações no paladar (SIMÕES et al., 2009; SALEH et al., 2014; MERCADANTE et al., 2017). Em relação ao fluxo salivar, o principal achado deste estudo foi que ambos os tratamentos se mostraram eficazes durante a RT. Neste estudo o fluxo salivar reduziu aproximadamente 40 por cento no grupo PBM e 30 por cento no betanecol. No entanto, ambos apresentaram redução menor do que no estudo de Lin et al. (2022), que relataram drástica redução salivar de 63 por cento em pacientes após o tratamento radioterápico.

Estudar estratégias terapêuticas que visem atenuar as sequelas da redução do fluxo salivar em pacientes em tratamento oncológico pode contribuir para melhora da saúde bucal e da qualidade de vida do paciente. De acordo com o nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo a comparar e avaliar estas duas opções terapêuticas (Betanecol e PBM) para o manejo da hipossalivação e xerostomia durante a radioterapia, e ambas se mostraram eficazes.

O Betanecol é um éster carbâmico da b-metilcolina resistente à ação da colinesterase, tendo assim maior duração de efeito em comparação a outros sialogos (JHAM et al., 2007). As doses recomendadas, entre 25-200 mg/dia, são usadas e não são observados efeitos na frequência cardíaca, pressão arterial ou circulação periférica (JHAM et al., 2007). Nesta pesquisa foi utilizada a dose de 25 mg duas vezes ao dia, para evitar qualquer efeito negativo, assim como em estudo de Jham et al. (2007) e Jaguar et al. (2015). No entanto, Jham et al. (2007) utilizaram o medicamento três vezes ao dia. Todos os pacientes confirmaram o uso conforme prescrito e nenhum apresentou sinal adverso ou desconforto com o uso do medicamento.

Jham et al. (2007) avaliaram o efeito clínico do betanecol durante a RT comparando com a saliva artificial, e assim como no estudo de Jaguar et al. (2015) que realizaram a comparação com placebo, o uso profilático de betanecol foi eficaz em diminuir os danos às glândulas salivares, apresentando assim melhora significativa dos parâmetros salivares. Neste estudo o fluxo salivar não apresentou redução estatisticamente significativa e nenhum efeito adverso foi observado. Os estimulantes salivares como o Betanecol são uma opção de tratamento para hipossalivação melhor do que os substitutos da saliva como a saliva artificial por exemplo, pois os primeiros induzem a secreção de saliva natural das glândulas não danificadas (MALALLAH et al., 2018). Corroborando com os dados apresentados pela literatura, é possível considerar o Betanecol como opção medicamentosa para reduzir o risco de hipofunção da glândula salivar e xerostomia

(MERCADANTE et al., 2021).

A falta de uma adequada renovação celular das glândulas salivares, consequência de danos causados pelos radicais livres gerados pela irradiação do tratamento radioterápico, tem como outra forma de prevenção a fotobiomodulação, irá fornecer energia útil para que a célula se mantenha em atividade (PALMA et al., 2017; BRZAK et al., 2018).

Além da recomendação da Walt 2022 (World Association of photobiomodulation Therapy) (ROBIJNS et al., 2022), para o uso da fotobiomodulação como uma forma de prevenir a hipossalivação no período transradioterápico, o uso da PBM parece ainda minimizar a hipossalivação induzida por radiação (LOUZEIRO et al., 2020). A introdução da terapia a laser nos cuidados de suporte para pacientes submetidos ao tratamento antineoplásico mostrou benefícios para o paciente e também para o sistema de saúde ao reduzir a morbidade e os custos associados (GONZÁLEZ-ARRIGADA et al., 2018). Em contrapartida, Saleh et al. (2014) não encontraram diferença entre o grupo laser e o grupo controle, mas realizou a PBM apenas após o paciente finalizar todas as sessões de RT. Ribeiro et al. (2021) mostraram que o uso da fotobiomodulação não interferiu significativamente na queixa de xerostomia em pacientes em tratamento com RT. Uma razão importante pode ser o fato de que os protocolos para a fotobiomodulação são muito variáveis, o que causa divergência entre os estudos. Como exemplo, os resultados da metanálise de Louzeiro et al. (2020) relatam que o comprimento de onda vermelho apresentou maior tendência para o aumento do fluxo salivar do que a associação entre o vermelho e o infravermelho. Esses resultados contradizem o estudo de Brzak et al. (2018), em que foi comparado esses dois comprimentos de onda por 10 dias consecutivos e os pacientes tratados com PBM no comprimento de onda 830 nm apresentaram maior quantidade de saliva, essa maior resposta ao comprimento infravermelho está relacionado principalmente a maior capacidade de penetração tecidual e o estudo de Palma (2017), em que foi realizado com comprimento de onda 808nm, 2 vezes na semana, durante 3 meses com um total de 24 sessões e o comprimento infravermelho também estimulou a função da glândula residual.

Além de ser um método simples, barato, de fácil aceitação pelo paciente e não traumático, a PBM melhora a microcirculação local, induz a proliferação de células glandulares e aumenta assim a respiração celular, síntese de proteínas, produção de ATP e o nível de cálcio intracelular. Esses efeitos celulares da PBM variam em intensidade de acordo com a quantidade de energia fornecida porém a alta heterogeneidade dos estudos faz com que tenha essa variedade de resultados (PALMA et al., 2017; LOUZEIRO et al., 2020). De acordo com este último autor, o efeito positivo do PBM sobre as glândulas salivares pode ser melhor visto na 15ª sessão de radioterapia e, em maior medida, ao final, sugerindo essa relação de dose-efeito.

A xerostomia induzida por radiação é o efeito colateral relatado com mais frequência com impacto em diferentes dimensões mais gerais da qualidade de vida a longo prazo (JELLEMA et al., 2007). No que diz respeito à severidade da xerostomia, que complementa os dados de fluxo salivar, este estudo merece atenção porque não foi observada diferença na xerostomia tanto no grupo betanecol como no PBM. Esses resultados indicam que o uso preventivo de betanecol e da PBM parece desempenhar um papel importante na redução da queixa de xerostomia e hipossalivação durante o tratamento radioterápico.

Em relação aos tratamentos propostos neste estudo, não houve uma piora da sensação de boca seca, tanto nos pacientes do grupo betanecol quanto nos do grupo fotobiomodulação, este resultado é altamente desejável para a manutenção da saúde bucal dos pacientes. Cotomacio et al. (2017) mostraram que houve melhora da xerostomia. Kavitha et al. (2017) relataram melhora significativa da secura oral subjetiva em 80% dos pacientes. Estes autores também relataram que o pH da saliva não se apresentou mais ácido. Houve aumento do pH da saliva dos pacientes pós-irradiados, conseguindo preservar a capacidade tamponante, a qual geralmente é reduzida por resultado da lesão por radiação em ácinos serosos (PALMA et al., 2017). A respeito do pH, neste estudo não houve alterações nos tempos avaliados, bem como nas duas modalidades de tratamento para hipossalivação.

A homeostase da composição salivar é importante para a manutenção e preservação da saúde bucal. A saliva deve continuar realizando suas inúmeras funções, porém durante a radioterapia a saliva também sofre alterações químicas (UWITONZE et al., 2020; DE ASSIS et al., 2021). Neste estudo, não houve alteração na qualidade da saliva visto que a maioria dos íons não apresentou grandes alterações, como os elementos Al, As, Bi, Ca, Cd, Co, Cu, K, Li, Mn, Mg, Mo, Pb, S, Sb, Se, Sr, Ti, V, Zn que não apresentaram diferença em relação ao grupo e ao tempo estudado, apenas os íons Cr e P apresentaram alteração de quantidade.

Um importante íon que não apresentou diferença estatisticamente significativa e continuou estável em ambos os grupos nesta pesquisa é o Zn, com função de manter a saúde periodontal e diminuir a taxa de desmineralização do esmalte, função esta que os íons Ca e P também atuam, além de que a diminuição do Zn está associada a halitose, diminuição do paladar e na redução do fluxo salivar (UWITONZE et al., 2020). Neste estudo observamos o alerta para esses pacientes devido a diminuição do P no grupo PBM e a função des-remineralização deste íon. De acordo com De Assis (2021) o Cr presente no tumor (CEC) foi determinante de pior evolução clínica pois o íon acaba gerando radicais de oxigênio com ativação das vias de sinalização da inibição da apoptose, isto leva ao acúmulo de mutações, podendo favorecer mudanças microambientais que

estimulam a progressão do tumor. Este estudo encontrou aumento da dosagem de Cr em relação ao tempo no grupo Betanecol, mas não houve diferença significativa entre pré e pós radioterapia no grupo PBM. Em relação ao histórico de tabagismo, que é um dos principais fatores de risco para o câncer de boca e presente em alta porcentagem nos pacientes deste estudo, Archanjo (2020) relata a presença de alguns íons associados como o Cr em maiores percentuais em indivíduos ex fumantes, enquanto ausente em amostra de tecido cancerígeno de indivíduos que nunca utilizaram o fumo.

Em relação às vantagens e desvantagens das terapias utilizadas, uma das vantagens do uso da PBM na prevenção da redução do fluxo salivar é que esta terapia já é amplamente utilizada durante a RT para a prevenção e o tratamento da mucosite oral (GONZÁLEZ-ARRIGADA et al., 2018), sendo então necessário somente acrescentar alguns pontos extras. Outro ponto positivo é ser um efeito localizado e o paciente estar em tratamento diário com RT, deste modo já estaria no hospital para realização da PBM. Em relação ao betanecol (JHAM et al., 2007), a vantagem é a possibilidade do uso em casa, com comprimidos/cápsulas que são administrados por via oral. Porém ainda há poucos estudos científicos, além da necessidade de comprometimento por parte do paciente na utilização para ter algum resultado, e o custo do medicamento. Outra desvantagem é que estes pacientes já são polimedicados e esta opção agrega mais um medicamento além de todos os demais já utilizados pelo paciente em tratamento oncológico.

Uma limitação deste estudo é que não foi realizado o acompanhamento dos pacientes por um período mais longo após o fim da radioterapia e, portanto, não foi possível determinar se ambas as terapias são eficazes para a prevenção da xerostomia e da hipossalivação a longo prazo. Outra limitação é o tamanho da amostra de estudo, pois a taxa de óbito em pacientes oncológicos é esperadamente mais elevada. Este estudo não contemplou um grupo controle (sem intervenção) o que representa uma limitação. Apesar de estar previsto no desenho inicial do estudo não foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos.

Não houve redução do fluxo salivar e piora no sintoma de xerostomia com o uso de ambos os tratamentos quando administrados durante o tratamento radioterápico. Foi possível observar resultados seguros e positivos após a aplicação da fotobiomodulação e/ou do uso do medicamento Betanecol para minimizar os efeitos da radiação ionizante nas glândulas salivares. Desta forma, pode-se concluir que são métodos de prevenção da sensação subjetiva de boca seca e da hipossalivação induzida por radiação, com consequente melhora na qualidade de vida nestes pacientes desde a primeira sessão de tratamento, pois dessa forma a saliva continua cumprindo seu papel em suas funções.

CONCLUSÃO

A terapia de fotobiomodulação se mostrou tão eficaz quanto o uso sistêmico de betanecol para hipossalivação e xerostomia em casos de radioterapia em região de cabeça e pescoço.

REFERÊNCIAS:

ALMANGUSH, A. et al. Staging and grading of oral squamous cell carcinoma: An update. **Oral Oncol.** v. 107, p. 104799, 2020.

ARCHANJO, A. B. et al. Elemental characterization of oral cavity squamous cell carcinoma and its relationship with smoking, prognosis and survival. **Sci Rep.** v. 10, n. 1, p. 10382, 2020.

BANDERAS, J. A. et al. Flujo y concentración de proteínas en saliva total humana. **Salud Pública de México.** v. 39, n. 5, p. 433-443, 1997.

BARBE, A. G. Long-term use of the sialogogue medications pilocarpine and cevimeline can reduce xerostomia symptoms and increase salivary flow in head and neck cancer (HNC) survivors after radiotherapy. **The Journal of Evidence-Based Dental Practice.** 2017.

BRZAK, B. L. et al. Different protocols of photobiomodulation therapy of hyposalivation. **Photomedicine and laser surgery.** v. 36, n. 2, p. 78-82, 2018.

CHAMOLI, A. et al. Overview of oral cavity squamous cell carcinoma: Risk factors, mechanisms, and diagnostics. **Oral Oncol.** v. 121, p. 105451, 2021.

COTOMACIO, C. et al. Influence of bethanechol on salivary parameters in irradiated patients. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.** 2017.

DE ASSIS, A. et al. Chlorine, chromium, proteins of oxidative stress and DNA repair pathways are related to prognosis in oral cancer. **Sci Rep.** v. 11, n. 1, p. 22314, 2021.

DEASY, J. O. et al. Radiotherapy dose-volume effects on salivary gland function. **Int J**

Radiat Oncol Biol Phys. v. 1, n. 76 (3 Suppl), p. 58-63, 2010.

FUERTES, C. S. et al. Utilidad de la pilocarpina como profiláctico de xerostomía en pacientes con cáncer de cabeza y cuello tratados con radioterapia. Valoración mediante gammagrafía y flujo salivar. **Rev Esp Med Nucl.** v. 23, n. 4, p. 259-66, 2004.

GONZÁLEZ-ARRIAGADA, W. A. et al. Efficacy of low-level laser therapy as an auxiliary tool for management of acute side effects of head and neck radiotherapy. **J Cosmet Laser Ther.** v. 20, n. 2, p. 117-122, 2018.

JAGUAR, G. C. et al. Double blind randomized prospective trial of bethanechol in the prevention of radiation-induced salivary gland dysfunction in head and neck cancer patients. **Radiother Oncol.** v. 115, n. 2, p. 253-6, 2015.

JELLEMA, A. P. et al. Impact of radiation-induced xerostomia on quality of life after primary radiotherapy among patients with head and neck cancer. **International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics.** v. 69, n. 3, p.751-760, 2007.

JHAM, B. C. et al. A randomized phase III prospective trial of bethanechol to prevent radiotherapy-induced salivary gland damage in patients with head and neck cancer. **Oral Oncol.** v. 43, n. 2, p. 137-142, 2007.

KAVITHA, M.; MUBEEN, K.; VIJAYALAKSHMI, K. R. A study on Evaluation of efficacy of bethanechol in the management of chemoradiation-induced xerostomia in oral cancer patients. **J Oral Maxillofac Pathol.** v. 21, n. 3, p. 459-460, 2017.

KUBALA, E. et al. A Review of Selected Studies That Determine the Physical and Chemical Properties of Saliva in the Field of Dental Treatment. **Biomed Res Int.** v. 2018, p. 6572381, 2018.

LI, Y. et al. Diagnosis, Prevention, and Treatment of Radiotherapy-Induced Xerostomia: A Review. **J Oncol.** v. 27, p. 7802334, 2022.

LIN, A. et al. The impact of head and neck radiotherapy on salivary flow and quality of life: Results of the ORARAD study. **Oral Oncol.** v. 127, p. 105783, 2022.

LOUZEIRO, G. C. et al. Does laser photobiomodulation prevent hyposalivation in patients undergoing head and neck radiotherapy? A systematic review and meta-analysis of controlled trials. **Crit Rev Oncol Hematol.** v. 156, p. 103115, 2020.

MALALLAH, O. S. et al. Buccal drug delivery technologies for patient-centred treatment of radiation-induced xerostomia (dry mouth). **International Journal of Pharmaceutics.** 2018

MERCADANTE, V. et al. Interventions for the management of radiotherapy-induced xerostomia and hyposalivation: A systematic review and meta-analysis. **Oral oncology.** v. 66, p. 64-74, 2017.

MERCADANTE, V. J. et al. Salivary Gland Hypofunction and/or Xerostomia Induced by Nonsurgical Cancer Therapies: ISOO/MASCC/ASCO Guideline. **Journal of Clinical Oncology.** v. 21, p. 01208, 2021.

NAVAZESH, M., CHRISTENSEN, C. M. A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. **J Dent Res.** v. 61, n. 10, p. 1158-1162, 1982.

NGAMCHUEA, K. et al. Chemical analysis in saliva and the search for salivary biomarkers – a tutorial review. **Analyst.** v. 143, p. 81–99, 2018.

PALMA, L. F. et al. Impact of low-level laser therapy on hyposalivation, salivary pH, and quality of life in head and neck cancer patients post-radiotherapy. **Lasers in medical science.** v. 32, n. 4, p. 827-832, 2017.

PEDERSEN, A. M. L. et al. Salivary secretion in health and disease. **J Oral Rehabil.** v. 45, n. 9, p. 730-746, 2018.

PEREIRA, R. M. D. S. et al. Topical pilocarpine for xerostomia in patients with head and neck cancer treated with radiotherapy. **Oral Dis.** v. 00, p. 1–10, 2020.

RIBEIRO, L. N. et al. Evaluation of the salivary function of patients in treatment with radiotherapy for head and neck cancer submitted to photobiomodulation. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**. v. 26, n. 1, p. 14-20, 2021.

RILEY, P. et al. Pharmacological interventions for preventing dry mouth and salivary gland dysfunction following radiotherapy. **Cochrane Database of Systematic Reviews**. v. 7, 2017.

ROBIJNS, J. et al. Photobiomodulation therapy in management of cancer therapy-induced side effects: WALT position paper 2022. **Front Oncol**. v.12, p. 927685, 2022.

ROSA, L. K. et al. Oral health, organic and inorganic saliva composition of men with Schizophrenia: Case-control study. **J Trace Elem Med Biol**. v. 66, p. 126743, 2021.

SAAVEDRA, J. A. et al. Comparison of Salivary Electrolytes Profile in Oral Potentially Malignant Disorders and Oral Squamous Cell Carcinoma. **Asian Pac J Cancer Prev**. v. 23, n. 3, p. 1031-1039, 2022.

SALEH, J. et al. Effect of low-level laser therapy on radiotherapy-induced hyposalivation and xerostomia: a pilot study. **Photomedicine and Laser Surgery**. v. 32, n. 10, p. 546-552, 2014.

SIMÕES, A. et al. Laser as a therapy for oral complications induced by chemotherapy and radiotherapy. **Jornal Brasileiro de Laser**. v. 2, n. 10, p. 2-15, 2009.

SHETTY, S. R. et al. Status of trace elements in saliva of oral precancer and oral cancer patients. **J Cancer Res Ther**. v. 11, n. 1, p. 146-149, 2015.

UWITONZE, A. M. et al. Zinc Adequacy Is Essential for the Maintenance of Optimal Oral Health. **Nutrients**. v. 12, n. 4, p. 949, 2020.

ANEXOS

FICHA CLINICA Data: __/__/__

NÚMERO DO POTE INICIAL: _____ FINAL: _____ Final2: _____

Nome do Paciente: _____

Idade _____ DN: __/__/__ Prontuário: _____

Tipo histológico do tumor: _____

Estágio do tumor: _____

Localização do tumor: _____

Cirurgia (Sim) (Não) _____

Químio (Sim) (Não) _____

Radioterapia (adjuvante) (neoadjuvante) (remissiva) (concomitante) (outra) _____

GRUPO 1 Fotobiomodulação () GRUPO 2 Betanecol () GRUPO 3 Placebo ()

Tempo que terminou a radioterapia (somente grupo 2): _____

Número de sessões RXT: _____ Complemento: _____ Dose total: _____

Sonda NG (sim) (não) ~~Mucosite~~ (sim) (não) grau: _____ Internação (sim) (não) _____

Localização da irradiação: _____

Terapia para salivação: _____

EVA inicial: _____ EVA final: _____

Peso do pote	Peso pote coleta inicial	Peso do pote coleta final

Grupo TFBM:

Sessão/Data	Sessão/Data
1	11
2	12
3	13
4	14
5	15
6	16
7	17
8	18
9	19
10	20

Anexo 1: Ficha clínica do projeto

Anexo 2

Análise Bioquímica das Amostras

O método de análise bioquímica foi realizado por meio da Espectroscopia atômica, na qual é possível determinar elementos-traço na saliva. Por meio do Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, ou seja, espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente (ICP-OES, Modelo 5110, Synchronous Vertical Dual View Agilent Technologies, Austrália) e também foi utilizado para determiná-las por meio da indução de espectrometria de massa de plasma acoplado (ICP-MS, Agilent 7800 Quadrupolo, Agilent Technologies, Japão) equipado com uma célula de colisão/reação, que são técnicas que se baseiam na emissão espontânea de fótons de átomos e íons que são excitados em uma descarga de radio frequência (ROSA, L. K. et al. 2021).

Para análise sialoquímica inorgânica as amostras foram retiradas do congelador e expostas à temperatura ambiente e serão submetidas à digestão da saliva para a remoção da parte orgânica. A determinação dos elementos traço foram realizadas no Laboratório na Embrapa no Espectrômetro ICP-OES e ICP-MS. O gás argônio (99,999 %, White Martins Praxair, Brasil) foi utilizado como gás suporte e nebulizador em ambos os instrumentos. Os parâmetros usados estão descritos na tabela S1

Tabela S1. Parâmetros instrumentais usados para determinação elementar por análise ICP-MS e ICP-OES.

Parâmetros	Condição de operação	
	ICP-MS	ICP-OES
Potência de radiofrequência (kW)	1.2	1.2
Fluxo de gás de plasma (L min ⁻¹)	12	12
Fluxo de gás auxiliary (L min ⁻¹)	0.5	1.0
Fluxo de gás do nebulizador (L min ⁻¹)	1.0 ^a	0.7
Fluxo de He (mL min ⁻¹)	4.5	NA ^b
Tempo de integração (s)	15	3
Número de réplicas	3	3
Nebulizador	Concentric	OneNeb® (2 series)
Câmara de pulverização	Tipo Scott, passagem dupla	Ciclônico, passagem dupla
Célula de colisão ou reação	He (Pb e Zn) No gas (Al, As, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Sb, Se, Sr, Ti, e V)	NA
Modo de visualização	NA	Radial (Mg, Na, and S) Axial (Ca, K, and P)
Isótopo (m/z) ou comprimento de onda (nm)	²⁷ Al ⁺ , ⁷⁵ As ⁺ , ²⁰⁹ Bi ⁺ , ¹¹⁴ Cd ⁺ , ⁵⁹ Co ⁺ , ⁵² Cr ⁺ , ⁶³ Cu ⁺ , ⁷ Li ⁺ , ⁵⁵ Mn ⁺ , ⁹⁸ Mo ⁺ , ²⁰⁸ Pb ⁺ , ¹²¹ Sb ⁺ , ⁷⁸ Se ⁺ , ⁸⁸ Sr ⁺ , ⁴⁸ Ti ⁺ , ⁵¹ V ⁺ , e ⁶⁴ Zn ⁺	Ca I 422.7, K I 769.9, Mg II 279.5 Na I 589.6, P I 213.6, e S I 181.9

^a HMI taxa de fluxo de gás de 0.60 L min⁻¹ e taxa de fluxo de gás de arraste de 0.40 L min⁻¹

^bNA (não aplicável).

Por meio da Técnica Multielementar de leitura, realiza-se a diluição da amostra de acordo com a concentração da mesma. A execução é realizada primeiramente por meio da calibração do aparelho com quatro amostras padrões (STD1, STD2, STD3 E STD4), depois de calibrada, restaura o processo da máquina com a água deionizada, que é livre de íons reagente e, por conseguinte inicia-se a leitura das amostras referidas.

O preparo das amostras é iniciado com a descontaminação dos tubos de Falcon com ácido nítrico 5% ou 10%. Serão adicionados: 1ml de amostra (saliva), 0,2 ml de ácido nítrico e 0,2 ml de peróxido de hidrogênio.

Seguido de um banho em ultrassom por 20 minutos, para terminar de quebrar as ligações da matéria orgânica, diminuir a viscosidade da amostra. Para que os metais fiquem disponíveis para serem quantificados.

A precisão foi determinada por meio de testes de adição/recuperação conduzidos em três níveis de concentração, com recuperações variando de 81 a 116% atendendo aos requisitos para níveis de concentração medidos. Todas as curvas de calibração tiveram R² > 0,999. Os dados estão apresentados na tabela S2.

Tabela S2. Recuperações (%) calculadas no nível de concentração avaliado (L).

Analito	Unidade	Recuperação (%)		
		L1	L2	L3
Al	$\mu\text{g L}^{-1}$	107	100	97
As	$\mu\text{g L}^{-1}$	106	107	91
Bi	$\mu\text{g L}^{-1}$	85	97	82
Ca	mg L^{-1}	87	93	96
Cd	$\mu\text{g L}^{-1}$	94	99	84
Co	$\mu\text{g L}^{-1}$	110	109	93
Cr	$\mu\text{g L}^{-1}$	109	108	93
Cu	$\mu\text{g L}^{-1}$	114	114	94
Li	$\mu\text{g L}^{-1}$	111	108	97
Mg	mg L^{-1}	103	104	100
Mn	$\mu\text{g L}^{-1}$	107	105	90
Mo	$\mu\text{g L}^{-1}$	98	103	85
P	mg L^{-1}	81	83	105
Pb	$\mu\text{g L}^{-1}$	87	101	89
S	mg L^{-1}	96	97	110
Sb	$\mu\text{g L}^{-1}$	96	99	82
Se	$\mu\text{g L}^{-1}$	100	104	90
Sr	$\mu\text{g L}^{-1}$	102	104	87
Ti	$\mu\text{g L}^{-1}$	109	116	99
V	$\mu\text{g L}^{-1}$	114	107	96
Zn	$\mu\text{g L}^{-1}$	112	114	94

L1 = 5.00, L2 = 10.00, e L3 = 30.00 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Al, As, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Pb, Sb, Se, Sr, Ti, V e Zn); L1 = 1.00, L2 = 5.00, e L3 = 10.00 mg L^{-1} (Ca, K, Mg, Na, P e S).

Tabela S3. Concentração dos elementos-traço salivares ($\mu\text{g/L}$) sem diferença estatística nos grupos Betanecol e PBM pré-RT e pós-RT.

Variável	Laser Pré-RT	Laser Pós-RT	Betanecol Pré-RT	Betanecol Pós-RT	p-valor
Al*	579.3 \pm 762.2	746.0 \pm 803.6	896.9 \pm 2068	993.1 \pm 1185	0.56
As*	11.87 \pm 5.76	14.44 \pm 6.52	11.95 \pm 5.42	16.54 \pm 11.22	0.09
Bi[^]	31.49 \pm 36.54	21.20 \pm 20.78	65.62 \pm 140.1	19.41 \pm 32.95	0.80 [#]
Ca[^]	34.43 \pm 22.72	39.30 \pm 21.72	32.60 \pm 20.47	37.24 \pm 23.51	0.72 [#]
Cd*	2.48 \pm 1.82	1.82 \pm 1.98	1.30 \pm 1.06	2.01 \pm 1.44	0.25
Co*	1.83 \pm 4.46	2.65 \pm 6.74	0.31 \pm 0.16	0.67 \pm 0.73	0.61
Cu[^]	19.15 \pm 22.29	32.85 \pm 39.47	14.97 \pm 19.00	31.89 \pm 54.40	0.20 [#]
K*	761.6 \pm 399.2	690.4 \pm 205.4	741.7 \pm 226.7	775.1 \pm 272.0	0.32
Li*	2.90 \pm 2.55	4.14 \pm 8.27	3.08 \pm 3.73	5.25 \pm 8.49	0.65
Mg*	6.67 \pm 5.26	10.60 \pm 7.53	6.13 \pm 3.94	8.82 \pm 5.98	0.04 NS
Mn[^]	12.15 \pm 15.71	11.28 \pm 11.58	20.30 \pm 41.42	17.94 \pm 27.41	0.77
Mo*	2.40 \pm 6.46	0.67 \pm 0.77	0.91 \pm 1.26	0.96 \pm 0.73	0.12
Pb[^]	12.10 \pm 18.08	9.58 \pm 14.86	12.54 \pm 22.15	33.72 \pm 147.9	0.65
S[^]	98.03 \pm 172.3	102.5 \pm 76.92	62.71 \pm 42.07	88.91 \pm 79.83	**
Sb*	1.52 \pm 3.08	0.38 \pm 0.31	0.45 \pm 0.67	0.45 \pm 0.37	0.10
Se[^]	6.67 \pm 4.09	11.68 \pm 10.97	7.15 \pm 4.55	10.68 \pm 9.82	0.91
Sr*	42.43 \pm 66.51	70.97 \pm 168.8	24.65 \pm 17.33	30.57 \pm 19.10	0.12
Ti*	142.5 \pm 99.85	151.1 \pm 87.68	137.6 \pm 80.55	151.0 \pm 91.64	0.80
V*	23.20 \pm 11.73	27.92 \pm 11.94	22.04 \pm 9.31	28.16 \pm 12.44	0.04 NS
Zn*	592.9 \pm 805.4	576.6 \pm 704.8	280.1 \pm 359.7	598.0 \pm 673.8	0.32

*Dados com distribuição anormal, analisados por Kruskal-Wallis. Em caso de diferença, foi realizado pós teste de Dunn

[^]Dados com distribuição anormal, transformados e analisados por ANOVA de duas vias com pos teste de Sidak; [#]Valor de p da interação.