

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

JÉSSICA BERTÉ VALER

RELAÇÃO DA METABOLIZAÇÃO DO METOTREXATO COM O
DESENVOLVIMENTO DE MUCOSITE BUCAL EM PACIENTES ONCOLÓGICOS
PEDIÁTRICOS

Porto Alegre
2018

JÉSSICA BERTÉ VALER

RELAÇÃO DA METABOLIZAÇÃO DO METOTREXATO COM O
DESENVOLVIMENTO DE MUCOSITE BUCAL EM PACIENTES ONCOLÓGICOS
PEDIÁTRICOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade
de Odontologia da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, como requisito parcial para a
obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Manoela Domingues
Martins

Coorientadora: Dr^a Marina Curra

Porto Alegre
2018

CIP - Catalogação na Publicação

Valer, Jéssica Berté

Relação da metabolização do Metotrexato com o desenvolvimento de mucosite bucal em pacientes oncológicos pediátricos / Jéssica Berté Valer. -- 2017.

34 f.

Orientadora: Manoela Domingues Martins.

Coorientadora: Marina Curra.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Mucosite. 2. Quimioterapia. 3. Metotrexato. I. Martins, Manoela Domingues, orient. II. Curra, Marina, coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Aos profissionais do 3º Leste pela dedicação em seu trabalho e por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos pequenos pacientes e suas famílias, que mesmo em momentos difíceis de suas vidas aceitaram contribuir para o desenvolvimento da pesquisa clínica e permitiram nosso auxílio para amenizar e contribuir para sua luta.

Aos meus professores da UFRGS por me mostrarem que o caminho para uma Odontologia de excelência está aliado a muito amor, dedicação, empatia e força de vontade, a profissional que me tornarei em breve levará qualidades de vários de vocês.

Ao Vinicius Carrard que em 2015 me inseriu no Projeto de Extensão em Leucoplasias, me dando a oportunidade de deixar apaixonar pela área da Estomatologia.

Ao Marco Antonio Trevizani Martins, que permitiu que eu participasse do Ambulatório de Estomatologia do Hospital de Clínicas por duas inesquecíveis semanas, boa parte da bagagem que levo hoje foi adquirida naquelas intensas manhãs de atendimento, tua empatia e carinho com os pacientes é exemplar.

A Maria Beatriz Cardoso Ferreira, que desde as aulas de Farmacologia me cativou com tanta sabedoria, e que hoje tenho a honra que poder dividir um trabalho de pesquisa, que leva boa parte do seu conhecimento.

Ao Lauro Gregianin, uma das bases para esse trabalho, não só eu, mas todas as famílias dos pacientes do 3º Leste do HCPA são extremamente gratos a ti, obrigada por permitir “fazer parte” da tua equipe.

A Tuany Schmidt e Amanda de Farias, duas meninas de ouro, a dedicação de vocês rende muitos frutos e espero que muito em breve ela se transforme em sucesso e reconhecimento profissional a altura da força de vontade de vocês. Também a todos os “Manoeletes” porque trabalho em grupo é a chave para o sucesso.

A Marina Curra, de colega de Monitoria, admirada nas aulas de Patologia, a Orientadora de um trabalho tão importante, a ideia que tu tiveste em uma das noites de terça-feira está aí, na forma de um lindo trabalho, premiado e bem visto pela comunidade da pesquisa Odontológica. És um dos meus maiores exemplos de carreira, dedicação com os pacientes e com o ensino, é uma honra repassar tudo que tu fazes com tanto amor. Levarei para sempre o brilho no olhar que tu transmites e também o orgulho de dizer que aprendi muito contigo.

A Manoela Domingues Martins, que me acolheu com tanto carinho e oportunizou minha inserção na pesquisa. Não é a toa que és tão admirada por tantas pessoas, mulher forte, determinada, dedicada, sensível e carinhosa, teus títulos vão muito além das infinitas publicações, é uma honra ser orientada por ti. Obrigada não só pela orientação, mas pelo carinho e compreensão. Que sigamos juntas.

Aos meus amigos e amigas por compreenderem a minha preocupação (as vezes em excesso) com a vida acadêmica, vocês foram meu ponto de apoio, muitas vezes atuando como “psicólogos” pessoalmente, por áudios de whatsapp, por telefone. A cada abraço ou palavra de carinho eu sentia que deveria me esforçar ainda mais, porque havia pessoas torcendo e desejando muito sucesso para compartilharmos juntos. Em especial as minhas “lindosas” exemplo de diversão, as minhas duplas da faculdade Andressa Bertolo e Gabriela Crespo exemplo de companheirismo, as colegas e amigas que conquistei ao longo dessa jornada que tornaram a rotina da graduação mais leve e divertida, a Caroline Cimadon exemplo de Perseverança e aos “Friends” de Nova Bréscia, minha alegria de vários finais de semana. A família vai muito além de laços sanguíneos.

Ao Diônatas Delazeri, meu companheiro nos 4 anos em que estive nessa Universidade, uma pessoa tão diferente e ao mesmo tempo tão parecida comigo. Obrigada por se esforçar para compreender as minhas várias angústias ao longo desses anos de Graduação, por ser paciente nos finais de semana de estudo, por aguentar os muito minutos diários de ligação falando sobre minha intensa rotina e por ser não só meu amor, mas uma das pessoas que eu sei que mais torce pelo meu sucesso.

Por fim, e o mais importante, a aqueles responsáveis pela minha criação. A meus avós que se preocupavam tanto em me ver crescer de longe, esse sucesso se deve a criação que deram a seus filhos. Aos meus tios, tias, primos e primas sempre acolhedores e amorosos, obrigada por tudo! A Laura e o Thomas por serem minha motivação para buscar o melhor sempre e aos pais deles por me permitirem contribuir para o crescimento deles, prometo sempre dar o meu melhor.

A Jeniffer, que estava ao meu lado, torcendo, tentando ajudar, dividindo as tarefas da casa e tendo que compreender que o amor de irmã é quase o mesmo que de mãe.

Ao meu pai, por ser exemplo de força de vontade, de dedicação ao que faz, e de batalhar pelo sucesso. Prometo só te dar orgulho e retribuir todas as madrugadas mal dormidas e as infinitas horas trabalhadas para me dar o melhor, se cheguei até aqui é pela tua luta diária.

A minha mãe, meu exemplo de determinação, de força feminina, liderança, organização, paciência e outras mil qualidades que tento imitar a cada dia. Desde as aulas particulares de matemática que tu me dava, até as lições de vida adulta, tu se tornou a melhor “ Professora” que tive, mesmo sem mestrado ou doutorado, meu amor por ti é infinito.

“A grandeza de uma profissão é talvez, antes de tudo,
unir os homens: não há se não um verdadeiro luxo e esse
é o das relações humanas.”

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

O metotrexato (MTX) é um dos quimioterápicos amplamente utilizado no tratamento do câncer infanto juvenil e a mucosite bucal (MB) é um dos seus principais efeitos adversos. O objetivo desse estudo foi avaliar a relação do desenvolvimento de MB com o tempo de metabolização de MTX e níveis de bilirrubina (BB). Foram avaliados 150 ciclos de quimioterapia com MTX em altas doses ($>0,5\text{g}/\text{m}^2$) em pacientes com idade entre 0 e 18 anos. Foram coletados dados como dose de MTX recebida, grau de MB desde o dia de infusão (D1) até D15, níveis de BB total e concentração de metabólitos séricos de MTX 24 horas após a infusão, até este chegar ao nível $0,2\mu\text{M}$, não sendo mais considerado nível de alto risco de toxicidade para o paciente. Foram realizadas análises em medidas repetidas no tempo, considerando os achados clínicos em cada tempo utilizando o software SPSS for Windows, v.18. As comparações múltiplas foram feitas pelo teste qui-quadrado de Pearson e teste de Spearman ajustado para as correlações entre os tempos. Foi observado que pacientes que receberam doses de MTX acima de $8\text{g}/\text{m}^2$ levaram mais que 72h para metabolizar este quimioterápico ($p=,003$). Além disso, o maior tempo para metabolização de MTX esteve associado com o desenvolvimento de lesões ulceradas de MB ($p=,017$). Foi observada relação entre BB aumentada e maior severidade de MB (grau 3 e 4) ($p=,004$). Os níveis séricos de MTX e BB devem ser monitorados a fim de predizer os pacientes com maior risco para o desenvolvimento de MB.

Palavras- chave: Mucosite. Metotrexato. Quimioterapia.

ABSTRACT

Methotrexate (MTX) is chemotherapeutic agents largely used in the treatment of childhood cancer, and, oral mucositis (OM) is one of the main adverse effects. The aim of this study was to evaluate the relationship of development of OM with MTX metabolism time and levels of Bilirubin. 146 cycles of chemotherapy with MTX in high doses ($> 0,5 \text{ g / m}^2$) were evaluated in patients aged 0 to 18 years. Were collected as the dose of MTX infused, OM grade from infusion day (D1) to D15, total BB levels and MTX serum metabolite concentration 24 hours after infusion up to this volume, 0.2uM, not more demanding of the high risk of toxicity to the patient. Analyzes were made on repeated measurements in time, considering the clinical findings a teach time using SPSS software for Windows, v.18. Multiple comparisons were made by Pearson's correlation test, and Spearmen's test adjusted for the correlations between the times. It was observed that patients who received doses above 8mg / m^2 of MTX took's more than 72h to metabolize this chemotherapeutic ($p = ,003$). In addition, the more time to metabolize MTX was associated with the development of ulcerated lesions of OM ($p = , 017$). A relation between BB increased and higher severity of OM (grade 3 and 4) was observed ($p = .004$). Conclusion: Serum metabolite concentration of MTX and BB should be monitored to relative predict patients at highest risk for OM development.

Keywords: Mucositis. Metotrexate. Chemotherapy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	14
3.2 COLETA DE DADOS.....	14
3.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE.....	15
3.4 AVALIAÇÃO DA MUCOSITE BUCAL.....	15
3.5 AVALIAÇÃO DA BILIRRUBINA.....	16
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	16
4 RESULTADOS	17
5 DISCUSSÃO	21
6 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26
ANEXO	32
APÊNDICE- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	33

1 INTRODUÇÃO

As neoplasias da infância, embora representem somente de 2 a 3% de todos os cânceres, foram responsáveis por 140 casos em um milhão ao ano entre os anos de 2001 e 2010 segundo o Centro Internacional de Pesquisa Contra o Câncer (IARC), sendo a principal causa de mortalidade infantil em países desenvolvidos. Além disso o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima a incidência de 12600 novos casos ao ano, atingindo cerca de uma a cada 6.000 crianças no Brasil (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, 2017).

Esses tumores tem origem principalmente de células embrionárias primitivas que crescem e se multiplicam rapidamente sendo os tipos mais comuns leucemias, seguidos de tumores do sistema nervoso central, linfomas, tumores sólidos abdominais (Tumor de Wilms e neuroblastoma), osteossarcoma e rabdomyosarcoma (SILVA et al., 2015; INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, 2016). Apesar de serem doenças raras, o câncer infantil ainda é considerado uma das principais causas de morte em crianças e adolescentes (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, 2016). Desta forma, a busca por formas de tratamento adequadas para essas doenças tem sido foco de inúmeras pesquisas.

As modalidades terapêuticas para o tratamento do câncer são a cirurgia, radioterapia e quimioterapia (TEIXEIRA et al., 2016; NIEDERWIESER et al., 2016) ou combinação de protocolos. Dentre esses, a quimioterapia é o principal elemento do tratamento para o câncer infantil. Este tratamento tem como mecanismo fundamental a inibição não-seletiva da proliferação celular, isto porque a maior parte dos alvos moleculares sobre os quais os quimioterápicos atuam estão também presentes em células não-tumorais, de forma que esses agentes apresentem baixa ou nenhuma seletividade (KEEFE et al., 2006; VERA-LLONCH et al., 2007; SONIS, 2004). Esses fármacos exibem, de modo geral, estreitas janelas terapêuticas e, portanto, as diferenças entre as doses que produzem o efeito antitumoral e as que causam toxicidade são bastante pequenas. Assim sendo, a quimioterapia tem sido associada a uma série de efeitos adversos que podem levar à modificação ou interrupção do tratamento antineoplásico, resultando na redução de qualidade de vida e/ou sobrevida do paciente. Estes efeitos adversos incluem vômito, diarreia, toxicidade hepática, dermatites, mucosite bucal (MB) e mielossupressão (KWON, 2016; TULSYAN et al., 2014; LIU et al., 2014; CSORDAS et al., 2014; LALLA et al., 2014; TOHKIN, 2010; VERA-LLONCH et al., 2007; ROBIEN et al., 2004; SONIS, 2004). Por vezes, observa-se severa toxicidade após o

uso de doses necessárias para a obtenção dos efeitos terapêuticos. O aprimoramento da quimioterapia está relacionado ao aumento da distância entre as curvas ‘dose x resposta’ e ‘dose x toxicidade’.

O Metotrexato (MTX) é um dos quimioterápicos utilizados no tratamento dos diferentes tipos de neoplasias infantis e atua interferindo no receptor do ácido fólico, agindo na fase S do ciclo celular, bloqueando a síntese de DNA e atuando bioquimicamente nas células que crescem de forma exponencial (PARK; SHIN, 2016; HOWARD et al., 2016; LEKE, 2005). Severos efeitos colaterais incluindo toxicidade do sistema nervoso central (SNC), fígado, rim, medula óssea, sistema gastrointestinal e mucosa bucal, tem sido associados ao uso de altas doses de MTX o que pode ser inesperado e não necessariamente dependente da dose, em muitos casos inclusive, pode resultar na interrupção ou pausa no tratamento quimioterápico (VILLEGAS et al., 2017; CAMPBELL ET al., 2016; PARK; SHIN, 2016; KWON, 2016; CSORDAS, et al., 2014; ALMEIDA et al., 2005; RAJSKI, WILLIAMS, 1998).

O MTX é metabolizado e armazenado nas células hepáticas, causando um estresse oxidativo nesse tecido, podendo atrasar a depuração da droga; acredita-se que esse seja um dos motivos pelo qual essa droga acabe induzindo um aumento significativo dos marcadores de função hepática, mas isso não está muito bem elucidado. Essa depuração também pode ser alterada devido à precipitação do MTX e seus metabólitos nos túbulos renais, que podem causar obstrução e diminuição da depuração renal, prolongando os altos níveis de MTX na corrente sanguínea, podendo levar a descontinuação ou redução da quimioterapia, além de causar diversos efeitos colaterais já citados (LIU et al., 2017; HAGAG et al., 2016; CAMPBELL et al., 2016; MAGHODAM et al., 2015). Sendo assim faz-se necessário monitoramento dessas enzimas circulantes para controle do paciente, sendo mais comum o acompanhamento de Transaminase Glutâmico-Oxalacética (TGO), Transaminase Glutâmico-Pirúvica (TGP) e Bilirrubina (BB) (CAMPBELL et al., 2016; HAGAG et al., 2016; MAGHODAM et al., 2015; PIOTO, 2007).

Um aumento significativo nessas enzimas demonstra dano hepático, o que pode resultar em uma metabolização mais lenta dos medicamentos, permanecendo mais tempo na corrente sanguínea. Outro fator que pode dificultar a eliminação do MTX são as interações medicamentosas como, por exemplo, com o Naproxeno Sódico que pode induzir atrasos significativos na eliminação do MTX, podendo aumentar os riscos de desenvolver outro importante efeito colateral: a MB. (MOGHADAM et al., 2015; HOWARD et al., 2016)

A MB tem sido considerada um dos efeitos adversos mais debilitantes observados em pacientes realizando quimioterapia com MTX em altas doses ($>0,5 \text{ g/m}^2$) (HOWARD et al., 2016). A manifestação costuma ocorrer de 3 a 10 dias após a quimioterapia ser iniciada (LIU et al., 2017; MILLER et al., 2012; MILLER; PHARM; HAGEMANN, 2012), afetando cerca de 42,5 % a 100% dos pacientes (ALLEN et al., 2018; CHAUDRY et al., 2015), o que varia bastante conforme a metodologia dos estudos analisados, que podem ou não incluir protocolos preventivos e também variam na modalidade quimioterápica analisada. Clinicamente, a MB se manifesta como eritema ou ulcerações que podem ser exacerbadas por fatores locais (SILVA et al., 2015; RABER-DURLACHER; ELAD; BARASCH, 2010; OLIVEIRA et al., 2006; NOVIKOFF, 2005). O aparecimento dessas lesões costuma causar desconforto e dificuldade de alimentação em graus mais leves e em graus mais severos: dor intensa, necessidade de nutrição parenteral e até interrupção do tratamento (CHAUDHRY et al., 2015; SILVA et al., 2015; BEZINELI et al., 2015; CURRA, 2016). Além disso, devido ao rompimento da mucosa e a quebra das defesas do organismo, a MB pode facilitar a invasão microbiana resultando em infecções oportunistas (MILLER et al., 2012). Diversas escalas para avaliação das manifestações clínicas da MB são descritas na literatura, sendo as mais utilizadas a da Organização Mundial da Saúde (OMS), a do National Cancer Institute (NCI) e a do Radiation Therapy Oncology Group (RTOG).

Os mecanismos exatos através dos quais as drogas quimioterápicas citotóxicas provocam a MB não foram completamente elucidados. Sonis (1998, 2004) foi os primeiros a estudar a patobiologia da MB. Sonis (2004) descreveu MB em cinco fases, que são: iniciação, resposta ao dano primário, fase de amplificação, fase de ulceração e por fim, reparação. Alguns fatores têm sido apontados como responsáveis por aumentar o risco de incidência de MB. Dentre eles, estão: tipo de tratamento a que o paciente é submetido (SURESH et al., 2016; WOHLSCHLAEGER et al., 2004); saúde bucal prévia ao tratamento antineoplásico (SURESH et al., 2016; KHAW et al., 2014; RECOLONS et al., 2006); idade do paciente (DEVAJARU et al., 2009; PICO et al., 1998); além de marcadores de imunidade local como mediadores inflamatórios e de imunossupressão (SURESH et al., 2016; PATUSI et al., 2014; AL-DASOOQI et al., 2013).

Além desses fatores, alguns autores associam variabilidade na incidência de MB à variação na expressão de genes relacionados ao metabolismo de fármacos (LIU et al., 2017; MARTINS; WAGNER; LINDEN, 2013; LEE; MCLEOD, 2011; MIKKELSEN et al., 2011). Estudos sobre farmacogenética em oncologia tem focado na linha dos polimorfismos gênicos

envolvidos no metabolismo dos quimioterápicos que são mais utilizados na prática clínica e demonstram maior quantidade e severidade de efeitos adversos (MARTINS; WAGNER; LINDEN, 2013; LIU et al., 2017).

Diante disto, o conhecimento dos fatores de risco para MB se faz necessário para o desenvolvimento de intervenções efetivas durante o suporte ao paciente oncológico.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar a relação do desenvolvimento de MB com o tempo de metabolização de MTX e níveis de BB.

2.2 ESPECÍFICOS

Analisar a incidência de MB e sua relação com a dose de MTX utilizado em pacientes oncopediátricos.

Analisar a incidência de MB e sua relação como tipo de doença de base.

Analisar a incidência de MB com a dose de MTX utilizada e sua relação com toxicidade hepática através de níveis de BB em pacientes oncopediátricos.

Analisar a relação entre o tempo decorrido desde a infusão do MTX com o surgimento da MB.

Correlacionar o grau de MB com o tempo de eliminação do MTX (níveis não tóxicos ao organismo, $<0,2 \mu\text{M}$).

Correlacionar os níveis séricos de BB com o tempo de eliminação do MTX (níveis não tóxicos ao organismo, $<0,2 \mu\text{M}$).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Este é um estudo de coorte retrospectivo registrado na Plataforma Brasil, Comitê de Pesquisa e Ética (CEP) do HCPA, Comitê de Ética (CEP) da UFRGS, sistema UFRGS de pesquisa e Comissão de Pesquisa (COMPESQ) da Faculdade de Odontologia da UFRGS.

Amostra

O presente estudo utiliza dados previamente coletados de pacientes participantes do projeto de pesquisa “ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS CYP2C9 (*2rs1799853 e *3rs1057910) e ABCC2 (*rs717620) COM A SEVERIDADE DE MUCOSITE BUCAL E EVOLUÇÃO CLÍNICA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS” aprovado sob HCPA protocolo 14-0581 e realizado previamente sob coordenação da Profa. Dra. Manoela Domingues Martins. O projeto 14-0581 foi aprovado pelo Comitê de Pesquisa e Ética (CEP) do HCPA e o pesquisador responsável autoriza sua utilização (Anexo). Todos os pesquisadores envolvidos neste estudo assinaram o termo de compromisso para utilização de dados clínicos de prontuários dos pacientes.

3.2 PROTOCOLO PARA A COLETA DOS DADOS DO PACIENTE

Foram acompanhados pacientes de 0-18 anos de idade com diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mielóide aguda (LMA), osteossarcoma, e linfoma não-Hodgkin e Hodgkin. Os pacientes com recidiva de doença não foram incluídos no estudo, somente casos novos. Eles receberam tratamento quimioterápico composto por MTX (0,5 g/m² a 12 g/m²) no Serviço de Oncologia Pediátrica (SOP) no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Todos os pacientes incluídos neste projeto receberam adequação bucal prévia ao tratamento quimioterápico. Nessa avaliação também foram coletados os seguintes dados acerca do paciente: idade; gênero (masculino ou feminino); grupo étnico (branco, pardo, afro-descendente). Quanto à neoplasia e ao condicionamento, foram coletados e analisados os itens a seguir: diagnóstico anátomo-patológico; estadiamento clínico e tratamento quimioterápico a que seria submetido (droga, dose e frequência do tratamento).

Todos os pacientes recebiam avaliação durante o ciclo do quimioterápico, sendo considerado o início em D+1 (dia de infusão) e o fim em D+15. Nos períodos D+1, D+5 (início da neutropenia), D+10 (pico de imunossupressão) e em D+15 foram realizadas

avaliações clínicas que consistem em: quadro hepático através de análise dos níveis de BB e níveis de concentração sérica de metabólitos de MTX. Todos os dados foram coletados a partir de prontuário médico e anotados em ficha clínica própria confeccionada apenas para essa pesquisa. A severidade de MB foi avaliada diariamente a partir do momento de infusão do quimioterápico (D+1) até D+15. A MB foi graduada através da escala da Organização Mundial da Saúde (OMS) e todos os pacientes, ao apresentar qualquer sinal clínico de lesão, recebiam tratamento com fotobiomodulação (FBM) terapêutica após diagnóstico de lesão. Esta terapia tem sido considerada um excelente recurso para tratamento de MB (EDUARDO et al., 2009) e é protocolo padrão adotado no HCPA para pacientes com MB. Foi utilizado laser de diodo (InGaAlP), 660nm, 100mW de potência, 6,0 J/cm² por 3 segundos por ponto, totalizando uma energia de 0,24J por ponto, sendo realizada na área da lesão, por um pesquisador calibrado, cirurgião-dentista ou acadêmico de odontologia, 3 vezes na semana. Além disso a introdução do chá de camomila na dieta era indicada, sendo prescrita a ingestão desta solução, associada a bochechos diários da solução gelada ou fria.

3.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Inclusão

- Pacientes de ambos os gêneros em tratamento quimioterápico no SOP do HCPA que estavam recebendo protocolos que incluem (MTX em doses > 0,5g/m²).
- Pacientes que recebessem MTX em seu protocolo quimioterápico.
- Pacientes de 0-18 anos cujos responsáveis permitiram a sua participação no estudo através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e, quando aplicável, que o paciente consentisse a sua participação (Apêndice).

Exclusão

- Não comparecimento a um dos dias de avaliação clínica.

3.4 REGISTRO DA DOSE INFUNDIDA:

Para fins de organização da amostra foram classificados em 3 grupos conforme a dose de MTX recebida em cada ciclo:

Grupo 1- doses de até 5g/m²

Grupo 2- doses de 5 a 8 g/m²

Grupo 3- doses acima de 8g/m²

3.5 AVALIAÇÃO DA MB

Para a avaliação clínica da MB foi utilizado o critério de toxicidade aguda da Organização Mundial de Saúde (OMS) o qual considera critérios objetivos e subjetivos, envolvendo o estado físico e nutricional do paciente, assim como o aspecto clínico da boca (PARULEKAR et al., 1998). De acordo com esta classificação a MB varia do grau 0 ao grau 4 conforme descrito na Tabela 1:

Tabela 1 – Graduação da MB segundo os critérios da OMS

<i>OMS</i>	<i>SEVERIDADE DA REAÇÃO</i>
0	Sem evidência de mucosite
1	Eritema; lesões assintomáticas
2	Eritema; úlceras; pode ingerir sólido
3	Eritema; úlceras; só pode ingerir líquido
4	Úlceras confluentes; alimentação não é possível via oral.

Fonte: da autora.

3.6 AVALIAÇÃO DA BILIRRUBINA

O grau de toxicidade hepáticas através do nível de BB total apresentado foi avaliado de acordo com a classificação do Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos – NCI (do inglês, National Cancer Institute) (Tabela 2) e seguiu os períodos de avaliação de acordo com a rotina do SOP.

Tabela 2 - Classificação de toxicidade hepática de acordo com os critérios do NCI versão 5.0

Toxicidade hepática	Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Bilirrubina total	DLN	>LSN-1,5 X LSN	> 1,5-3,0 x LSN	> 3,0 -10,0 xLSN	> 10,0 x LSN

Fonte: da autora

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises realizadas foram as medidas repetidas no tempo, considerando os achados clínicos em cada tempo utilizando o software SPSS for Windows, v.18. As comparações múltiplas foram feitas pelo teste qui- quadrado de Pearson, e teste de Spearman ajustado para as correlações entre os tempos.

4 RESULTADOS

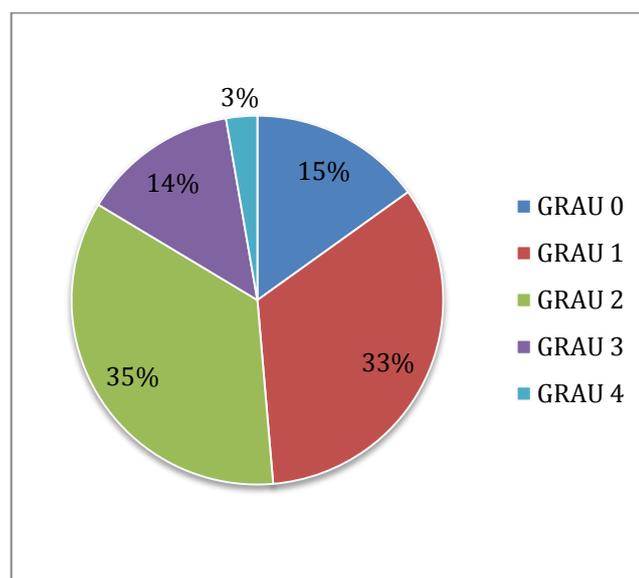
4.1 PACIENTES, CICLOS, DOSES E GRAUS DE MB

Neste estudo foram avaliados 44 pacientes, sendo incluídos, 24 pacientes com diagnóstico de leucemia linfoblástica Aguda (LLA), 6 pacientes diagnosticados com linfoma, 12 pacientes com osteossarcoma e 2 com neuroblastoma. Os pacientes que receberam tratamento para LLA realizaram 54 ciclos de quimioterapia que envolvia o quimioterápico MTX; já os diagnosticados com osteossarcoma receberam MTX em 68 ciclos; em menor número os pacientes em tratamento para linfoma utilizaram o MTX em 21 ciclos acompanhados pela equipe, e os pacientes em tratamento para neuroblastoma com 3 ciclos apenas, totalizando 146 ciclos avaliados.

Quando analisamos a dose recebida em cada ciclo no total do nosso n observamos que 36,3% (n=53) dos ciclos foi classificado como grupo 1, recebendo doses de até 5g/m², em 17,1% (n=25) foi realizada infusão de 5 a 8g/m², já em 46,5% dos ciclos o paciente recebeu doses superiores a 8g/m².

Ao analisarmos o grau máximo de MB desenvolvido em cada ciclo (Figura 1), observamos que em 15% dos ciclos esse grau foi 0 (n=22); em 33,5% (n=49) foi 1; em 34,9% (n=51) foi 2; o grau 3 foi apresentado em 13,6% dos ciclos (n=20) e o grau 4 em 2,7% (n=4). Assim, é demonstrado que em 84,7% (n= 121) dos ciclos houve algum grau clínico de MB em algum dos 4 graus da OMS.

FIGURA 1: gráfico mostrando diferentes graus de incidência de MB nos ciclos analisados

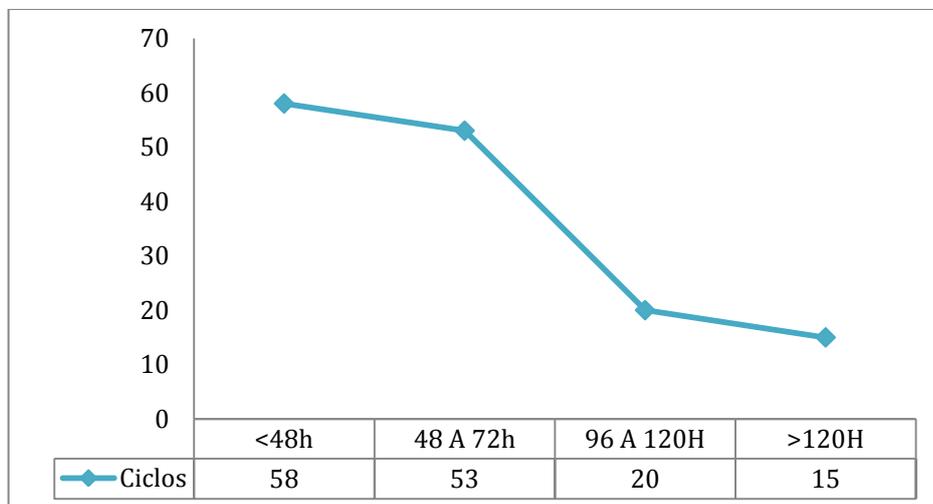


Fonte: da autora, 2017

4.2 O TEMPO DE DEPURAÇÃO DO MTX ESTÁ RELACIONADO COM O DESENVOLVIMENTO DE MB

Ao analisar o tempo necessário para depurar o MTX, até que este chegasse ao nível não tóxico ($0,2 \mu\text{M}$), observou-se que em 39,7% foram necessárias 48 h ($n=58$), já em 36,3% ($n=53$) foram necessárias até 72h, 13,6% ($n=20$) precisou de 96 a 120h e 10,2% ($n=15$) só conseguiu depurar o necessário da droga após 120h. Esses resultados estão ilustrados na figura 2.

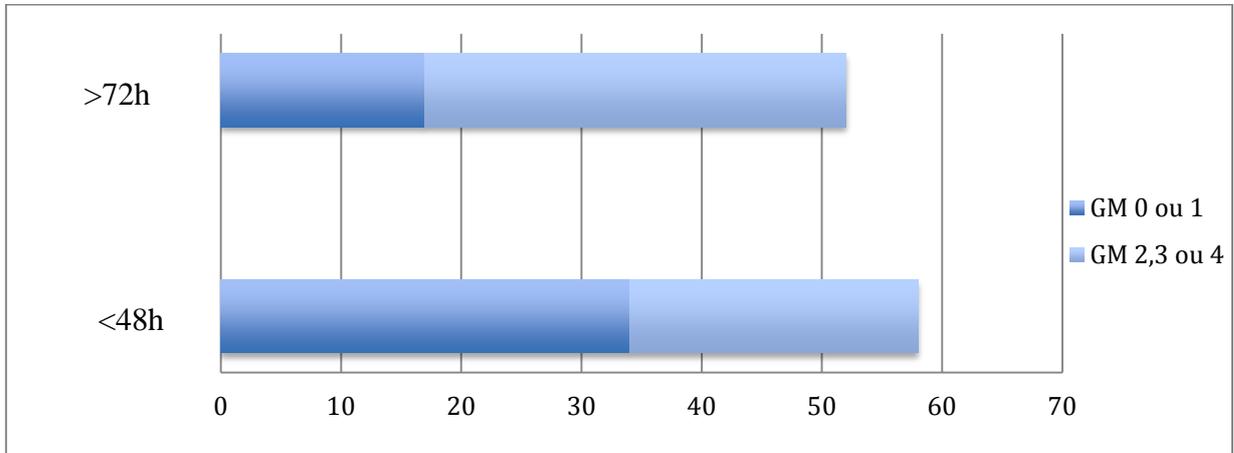
FIGURA 2: Gráfico ilustrando o tempo necessário para atingir o nível não tóxico nos ciclos analisados:



Fonte: da autora, 2017

A partir destes dados realizou-se uma correlação entre o tempo de depuração e o grau máximo de MB atingido nos 15 dias de cada ciclo avaliado, obtendo-se uma relação estatisticamente significativa através do teste qui-quadrado de Pearson ($p=,017$), demonstrando que em ciclos onde foram necessárias mais de 72h para atingir o nível de $0,2\mu\text{M}$ houve maior incidência de graus ulcerados de MB (graus 2,3 e 4 da OMS) e concomitantemente graus 0 e 1 foram observados com maior frequência em pacientes que depuraram o necessário em até 48h.

FIGURA 3: Graus de MB apresentados e sua relação com tempo de depuração



Fonte: da autora, 2017

4.3 O TEMPO DE DEPURAÇÃO DO QUIMIOTERÁPICO ESTÁ RELACIONADO COM A DOSE RECEBIDA

Ao correlacionarmos a dose recebida pelo paciente em cada ciclo com o tempo de depuração desta, foi observado que doses superiores a 8g/m^2 precisaram de mais que 72h para serem depuradas e doses inferiores a 5g/m^2 atingiram o nível não tóxico em até 48h ($p=,003$).

4.4 ELEVAÇÃO DOS NÍVEIS DE BB ESTÁ RELACIONADO COM PIORES GRAUS DE MB

Para análise desse aspecto 13 ciclos foram excluídos por não apresentarem resultado de exame para esta enzima, restando um total de 133 ciclos. A correlação entre nível máximo de BB total atingida nos 15 dias do ciclo e os graus de MB evidenciou relação positiva entre esses dois fatores, quando relacionados com severidade de MB e aumento nos níveis desta enzima hepática ($p=,004$), já quando relacionado ausência ou baixa severidade de MB com BB não houve significância estatística ($p=,260$), assim como quando relacionado graus mais leves com BB ($p=,261$) (tabela 3).

TABELA 3: Teste de Spearman evidencia relação entre BB e MB

			Correlations				
			Grau0	Grau01	Grau12	Grau34	Grau1234
Spearman's rho	BBT	Correlation	-,041	-,098	-,098	,248**	,032
		Coefficient					
		Sig. (2-tailed)	,639	,260	,261	,004	,715
		N	133	133	133	133	133

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Fonte: da autora, 2017.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo foram analisados 146 ciclos de quimioterapia envolvendo o MTX, em idade de 0 a 18 anos, sendo observada relação significativa da dose com incidência de MB, assim como relação com tempo de depuração do quimioterápico, com piores graus de MB. Na literatura são escassos estudos que analisem toxicidade bucal com específicos protocolos quimioterápicos em pacientes infantis. A MB é descrita na literatura como um efeito adverso de alguns protocolos quimioterápicos, entre eles o uso do MTX em altas doses ($>0,5 \text{ g/m}^2$) (HOWARD et al., 2016) estando essa relação bem elucidada (LIU et al., 2017; PARK; SHIN, 2016; CAMPBELL et al., 2016; CURRA, 2016 ; SURESH et al., 2010; WOHLSCHLAEGER et al., 2004), mas sendo escassos os estudos que analisem essa relação em pacientes pediátricos.

Em nosso trabalho foi encontrada uma alta porcentagem de incidência de MB de 84,7%, o que está dentro dos padrões da literatura atual de 42,5 a 100% dos pacientes (ALLEN et al., 2018; CHAUDRY et al., 2015). Esse valor é bastante variável, pois depende muito da metodologia de cada estudo, das doses infundidas, dos protocolos adotados previamente e concomitante com reposição de ácido folínico, introdução de medidas preventivas para MB, hiper hidratação, faixa etária analisada, graduação de MB utilizada para avaliação, entre diversos outros fatores (ALLEN et al., 2018; CHAVELI-LÓPEZ, 2014).

Em nosso estudo todos os pacientes foram examinados diariamente e ao apresentar qualquer sinal clínico de MB era iniciado tratamento com FBM, o que pode ter influenciado na porcentagem de apenas 14% de MB grau 3 e 4% de MB grau 4, uma vez que este acelera o reparo tecidual (CURRA et al., 2015; MIGLIORATI et al., 2013; CRIVELLO, 2010). Fezrazadi e Chiniforush (2014) realizaram uma revisão de literatura de 25 estudos, onde analisaram os efeitos da FBM em humanos, de todas as idades, de 2000 a 2013; em 23 estudos a FBM mostrou resultados positivos, reduzindo severidade, incidência e tempo de MB. Esses dados corroboram com outra revisão de literatura publicada por Bjordal et al. (2011), onde através da análise de ensaios clínicos randomizados, mostraram a redução do risco relativo após FBM em comparação com grupos placebo, além da redução de dias com MB nos grupos que receberam FBM em comparação a grupos placebo, assim como no estudo de Bensadoun e Nair (2012), que mostraram redução de 4,38 dias com MB em pacientes que receberam FBM. Os estudos citados foram, em sua maioria, realizado em pacientes adultos,

sendo encontrado apenas um estudo de Cruz et al., 2007 que realizou essa análise em pacientes pediátricos.

Além da FBM, todos os pacientes receberam adequação bucal prévia, incluindo o uso da solução de digluconato de clorexidina 0,12%, duas vezes ao dia. É descrito na literatura a variação na incidência e gravidade de MB relacionada a higiene bucal; Pico et al. (1998) e Reolons et al. (2006), relatam que má condição bucal prévia é relacionada a maior incidência de MB. Aspecto também evidenciado no estudo de Curra (2016) que mostrou a associação de gengivite severa com severidade de MB. Durante o tratamento também foi associado o uso de bochechos diários de chá de camomila, que é bastante conhecida pelo seu potencial anti-inflamatório e antimicrobiano, que devido a alguns compostos como os flavonóides, possui propriedades que auxiliam na cicatrização das lesões ulceradas (CURRA, 2016; CURRA et al., 2013; MARTINS et al., 2009; RAMOS-E-SILVA et al., 2006). A utilização dessas medidas é considerada um fator preventivo de MB e assim sua ação pode ter influenciado nos quadros de MB estabelecidos ao longo de nosso estudo.

Quando se trata da possível relação entre o tempo de depuração do MTX e sua relação com MB, os estudos são ainda mais escassos. Park e Shin (2016) realizaram esta análise em pacientes oncopediátricos com diagnóstico de osteossarcoma e demonstraram uma relação positiva quando analisado graus 3 e 4 de MB, com necessidade de mais de 48 ou 72 horas para a concentração sérica chegar a níveis não tóxicos. Estes achados corroboram com nossas análises; contudo, em nosso estudo foram analisadas as neoplasias mais comuns da infância, com tratamento baseado no uso de MTX em altas doses, e não apenas osteossarcoma.

A análise do uso de MTX no tratamento de diferentes neoplasias pode ser um fator de confusão, pois em alguns tratamentos ele é utilizado como único quimioterápico, enquanto que em outros, é associado a outros antineoplásicos. Sendo assim, a análise de diferentes neoplasias pode ser uma limitação importante considerando que nosso n para cada doença não é semelhante e as doses e combinações variam bastante conforme o protocolo de cada tratamento.

A metabolização do MTX é realizada nas células hepáticas e acredita-se que essa ação possa causar danos a estas células, além de alteração nos níveis de TGO, TGP e BB, mas isso não está bem elucidado, pois esse aumento pode não ter significado clínico (HOWARD et al., 2016; CAMPBELL et al., 2016; MAGHODAM et al., 2015). Porém, em nosso estudo, foi observada uma alteração significativa entre o aumento do nível de BB e piores graus de MB em pacientes pediátricos e não foram encontrados estudos que analisem esse efeito adverso

com este marcador, na faixa etária de 0 a 18 anos. Um fator limitante deste resultado em nosso trabalho é não ter realizado a análise de BB direta e indireta e sim BB total, o que pode representar um fator de confusão, pois a BB direta mostra realmente a quantidade de BB e açúcares formada pelo fígado e liberada na bile, já a indireta é a substância formada no momento da destruição dos glóbulos vermelhos no sangue, posteriormente levado ao fígado e por isso tem sua concentração maior no sangue, podendo se mostrar alterada quando existe um problema com moléculas sanguíneas, o que pode interferir na análise de pacientes oncológicos, principalmente com quadro de leucemia (ROY-CHOWDHURY; JANSEN, 1996).

Um quadro hepático alterado também pode alterar a metabolização do MTX e prolongar a meia vida do MTX na corrente sanguínea, como apresentado por Liu et al. (2017); Campbell et al. (2016) e Maghodam et al. (2015) , porém em nossas análises não houve relação estatística entre o tempo de depuração do MTX e os níveis de BB, acreditamos que é necessário fazer a análise de BB direta e indireta, como citado anteriormente e também dos níveis de TGO e TGP que podem ser mais fiéis quando analisado o dano hepático. Prolongado tempo com altos níveis de MTX na corrente sanguínea pode fazer com que seja necessário reduzir as próximas doses deste quimioterápico e também pode piorar os efeitos colaterais (FRANOVA et al., 2016; CAMPBELL et al., 2016; HOWARD et al., 2016).

Diversos estudos têm analisado a relação da metabolização do MTX e seus efeitos adversos com polimorfismos gênicos. Em um estudo recente realizado por Liu et al. (2017), em pacientes pediátricos com diagnóstico de leucemia, foi realizada análise de efeitos adversos associados a 12 polimorfismos e ao tempo de depuração, MB, toxicidade hepática, entre outros; não foi encontrada relação entre MB e algum dos polimorfismos analisados, apenas pacientes com alguns polimorfismos específicos apresentaram piores resultados a longo prazo e maior tempo de internação. Já Serra e Hattinger (2016) também seguiram o mesmo modelo de análise, em pacientes da mesma faixa etária, porém com diagnóstico de osteossarcoma e observaram que alguns polimorfismos específicos estão relacionados a maior mielosupressão; um polimorfismo da família do gene ABCB1 esteve relacionado ao maior tempo de depuração, corroborando com o estudo de Liu et al. (2017) . Não foram realizadas análises de polimorfismos com MB nesse estudo. Apesar de cada vez mais estarem sendo realizados estudos nessa área de polimorfismos, foi encontrado apenas um estudo na área médica que relacionasse MTX, polimorfismos e MB (LIU et al., 2017), o que mostra a necessidade de ampliar estudos nessa área para colaborar com a introdução de protocolos

preventivos a quimioterapia com objetivo de reduzir ou evitar MB e também conhecer os polimorfismos relacionados a transcrição de enzimas que realizam a metabolização e transporte de quimioterápicos.

A atenção odontológica ao paciente oncológico pediátrico é de suma importância, uma vez que acarreta na melhor qualidade de vida e até na sobrevivência dos pacientes. Sendo assim, conhecer fatores de risco para incidência e agravamento de MB é fundamentalmente relevante. Esse estudo demonstrou que o tempo de depuração está relacionado a dose recebida pelo paciente e quanto maior for esse tempo, há mais chance de o paciente apresentar lesões ulceradas de MB. Além disso, observou-se que a metabolização do MTX pode interferir no grau de MB apresentado pelo paciente, demonstrando que alterações hepáticas podem interferir nessa questão através da coleta de nível sérico de BB, que pode ser utilizado futuramente como um fator preditor de MB, podendo motivar a inserção de protocolos preventivos e individualizados para reduzir MB. Essas evidências ainda são muito escassas e demonstram a necessidade de mais estudos acerca dessa relação de MB com tempo de depuração de MTX, para assim poder orientar a necessidade de consultas preventivas e de controle desses pacientes.

6 CONCLUSÃO

É de extrema importância conhecer e buscar um adequado manejo dos diversos efeitos adversos a quimioterapia, com objetivo de melhorar a qualidade de vida e proporcionar um tratamento menos traumático, ainda mais quando se trata de pacientes pediátricos.

Neste sentido esse trabalho ajuda a evidenciar possíveis fatores que podem ser observados durante o tratamento quimioterápico com MTX para prevenir ou reduzir um dos piores efeitos adversos do tratamento antineoplásico: a MB. Baseando-se nos resultados dessa pesquisa pudemos demonstrar que existe uma associação entre a dose de MTX recebida durante o protocolo quimioterápico utilizado e o tempo necessário para que se atinjam níveis séricos não tóxicos ao paciente ($0,2\mu\text{M}$) e que quanto maior esse tempo, maior a chance de o paciente desenvolver graus ulcerados de MB, que interferem no seu conforto e alimentação. Este resultado demonstra a necessidade de monitorar os níveis séricos de MTX, com objetivo de prever a possibilidade de desenvolver piores graus de MB, e podendo pensar em ações preventivas de controle e cicatrização dessa manifestação.

No que tange a metabolização do MTX, conseguiu-se observar no estudo apresentado que uma toxicidade hepática pode estar representada pelos aumentos nos níveis de BB e esse aumento está relacionado com a maior chance de desenvolver graus 3 e 4 de MB. Isso mostra a necessidade de monitorar enzimas hepáticas para que se possa atuar o quanto antes possível, evitando que o paciente tenha que ingerir apenas alimentos líquidos ou necessite de nutrição parenteral.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A.I.A. **Manifestações Orais em Crianças em Tratamento Oncológico**, 2015.116 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Dentária)- Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Fernando Pessoa, Porto, 2015.
- AL-DASOOQI et al. Emerging evidence on the pathobiology of mucositis. **Support Care Cancer**. Berlim, v. 21, no.11, p.3233-3241, 2013.
- ALLEN et al. The prevalence and investigation of risk factors of oral mucositis in pediatric oncology inpatient population: a prospective study. **J Pediatr Hematol Oncol**, Nova York, v.40, no 1, p.15-21, 2018.
- ALMEIDA et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o dna: uma introdução. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 28, no. 1, p.118-129, 2005.
- BEZINELI, et al. Quality of life related to oral mucositis of patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation and receiving specialised oral care with low-level laser therapy: a prospective observational study. **Eur J Cancer Care**. Londres, v.25, no. 4, p. 668-674, 2015.
- BENSADOUN R.J., NAIR R.G., Low-level laser therapy in the prevention and treatment of cancer therapy-induced mucositis: 2012 state of art based on literature review and meta-analysis. **Curr Opin Oncol**, Philadelphia, v. 24, no 4, p.363-370, 2012.
- BJORDAL et al. A systematic review with meta-analysis of the effect of low-level laser therapy (LLLT) in cancer therapy-induced oral mucositis. **Support care cancer**, Berlim, v.19, no 8, p. 1069- 1077, 2011.
- CAMPBELL et al. Methotrexate induced toxicity pharmacogenetics: an umbrella review of systematic reviews and meta analyses. **Cancer Chemother Pharmacol.**, Berlim, v.78 , p. 27-39, 2016.
- CHAUDRY et al. The incidence and severity of oral mucositis among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients: a systematic review. **Biol.ofBloodandMarrowTransplant**. Charlottesville, v.22, p. 605-616, 2016.
- CHAVELI-LÓPEZ, B.; BAGÁN-SEBASTIÁN, J.V. Treatment of oral mucositis due to chemotherapy. **J ClinExp Dent**. Espanha, v.8, no. 2, p. e201-209, 2016.
- CRUZ et al. Influence of low-energy laser in the prevention of oral mucositis in children with cancer receiving chemotherapy. **Pediatr Blood Cancer**, v.48, no 4, p. 435-440, 2007.
- CSORDAS et al. Associations of novel genetic variations in the folate-related and ARID5B genes with the pharmacokinetics and toxicity of high-dose methotrexate in paediatric acute lymphoblastic leukemia. **Br. J. Haematol**. Oxford, v. 166, no. 3, p. 410-420, 2014.

CURRA, M. **Análise de fatores de risco associados à mucosite bucal em pacientes submetidos a transplante de células progenitoras hematopoiéticas e em pacientes oncológicos pediátricos.** 2016, 91f. Tese (Doutorado em Patologia Bucal) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

CURRA et al. Effect of topical chamomile on immuno histochemical levels of IL-1 β and TNF- α in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. **Cancer Chemother Pharmacol.** Berlin, v.71, p. 293 – 299, 2012.

CURRA et al. Photobiomodulation reduces oral mucositis by modulating NF-kB. **J BiomedOpt.** Bellingham, v 20, no 12. p. 125008, 2015.

DEVAJARU et al. Risk Scoring for Predicting Mucositis in Indian Patients with Esophageal Carcinoma Receiving Concurrent Chemo radio therapy. **Gastrointest Cancer Res.**, Melville, Nova York. v.3, p.4-6, 2009.

EDUARDO, de P.F. Severity of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic cell transplantation and an oral laser phototherapy protocol: a survey of 30 patients. **Photomed Laser Surg.** v.27, p.137-144,2009.

FADDA G., CAMPUS G., LUGLIE P. Risk factors for oral mucositis in pediatric oncology patients receiving alkylant chemotherapy. **BMC oralhealth**, v 6, p. 1-8, 2006.

FEKRAZAD R., CHINIFROUSH N. Oral mucositis prevention and management by therapeutic laser in head and neck cancers. **J LasersMedSci.** Tehran, v. 5, no 1, p. 1-7, 2014.

FRANOVA et al. Methotrexate efficacy, but not its intolerance, is associated with the dose and route of administration. **Pediatr Rheumatol Online J.** Chicago, v.14, no 36, p. 1-11.

HAGAG, A.A.; ELGAMSY, M.A.; EL-ASY, H.A.; MABROUK, M.M. protective role of sily marinin hepatic and renal toxicity induced by mtX based chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia. **Mediterr J HematolInfectDis.**Roma v.8, p. 1-9,2016

HOWARD et al. Preventing and managing toxicities of high-dose methotrexate. **Oncologist.** Dayton, Ohio, v. 21, no. 12, p. 1471-1482, 2016.

HUANG et al. Comparative effectiveness and safety between oxaliplatin-based and cisplatin-based therapy in advanced gastric cancer: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Oncotarget.**Albany, Nova York, V. 7, no. 23, p. 34824-34831, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/index.asp?ID=2>>. Acesso em: jul. 2017.

INTERNATIONAL ASSOCIATION OF CANCER REGISTRIES. Lyon, 2016. Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>>. Acesso em: jul 2016.

KAATSCH et al. Epidemiology of the childhood cancer. **Cancer treat Rev.** Londres, v. 36, p.277-285, 2010.

KEEFE, D.M.; PETERSON, D.E.; SCHUBERT, M.M. Developing evidence-based guidelines for management of alimentary mucositis: process and pitfalls. **Support Care Cancer**.v. 14, p. 492-498, 2006.

KHAW, A. et al. Influence of periodontitis on the experience of oral mucositis in cancer patients undergoing head and neck radiotherapy: a pilot study. **Support Care Cancer**. 2014.

KLASCO, R. K., **DRUGDEX - System (electronicversion)**. Colorado : [19-]. Disponível em:<http://www.thomsonhc.com/hcs/librarian/ND_T/HCS/ND_PR/Main/CS/61B674/DUPLICATIONSHIELDSYNC/607E3F/ND_PG/PRIH/ND_B/HCS/SBK/3/ND_P/Main/PFActionId/hcs.common.RetrieveDocumentCommon/DocId/0547/ContentSetId/31/sectionId/adverseReactionsSection/SearchTerm/METHOTREXATE%20/SearchOption/BeginWith#ip7.>. Acesso em: 07 dez. 2016.

KWON, Y. Mechanism-based management for mucositis: option for treating side effects without compromising the efficacy of cancer therapy. **Onco Targets Ther** .Auckland, New Zeland,v. 9, p. 2007-2016, 2016.

LALLA et al. MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. **Cancer**.New York,v. 120, nº.10, p. 1453–1461, 2014

LEE SY, MCLEOD H. Pharmacogenetic tests in cancer chemotherapy: what physicians should know for clinical application. **J Pathol.**, Londres., 223,p.15–27, 2011.

LEKE, R. **Neurotoxicidade do metotrexato**: utilização da proteína S100B como um marcador e estudo do envolvimento do sistema glutamatérgico. Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Porto Alegre, 2005. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/4941>>. Acesso em: 02 jul. 2017.

LIU et al. Early versus late distant metastasis and adjuvant chemotherapy alone versus both radiotherapy and chemotherapy in molecular apocrine breast cancer. **Oncotarget**. Albany, Nova York,v.7, no. 31, p. 48905-48917, 2016.

LIU et al., Association of ABCC2 224C.T polymorphism with high-dose methotrexate plasma concentrations and toxicities in childhood acute lymphoblastic leukemia. **PLoS ONE**. São Franciscov.9, no 1 p. 82681-82687, 2014.

LIU et al., Polymorphisms in methotrexate transporters and their relationship to plasma methotrexate levels, toxicity of high-dose methotrexate, and outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Oncotarget**, Albany, v.8, no 23, p.37761-37772.

MARTINS, C.M.; WAGNER, S.C.; LINDEN, R. Individualização Farmacocinética das Doses de 5-Fluoruracil no Câncer Colorretal. **Rev Brasileira de Cancerologia**. Rio de Janeiro,v. 59, no 2, p. 271-280, 2013.

MARTINS, M.D. et al. Comparative analysis between chamomilla recutita and corticosteroids on wound healing: an in vitro and in vivo study. **Phytother Res.**, London, v. 23, no. 2, p. 274-278, Feb. 2009.

- MIGLIORATI et al. Systematic review of laser and other light therapy for the management of oral mucositis in cancer patients. **Support care cancer**. Berlin, v.21, no 1, p. 333-341, 2013.
- MILLER, M. M.; DONALD, D.V.; HAGERMANN, T.M. Prevention and Treatment of Oral Mucositis in Children with Cancer. **J Pediatr Pharmacol Ther**. Littleton, Colorado, v. 17, no 4, p. 340-350, 2012.
- MIKKELSEN et al. Pharm GKB summary: methotrexate pathway. **Pharmacogenomics**, Hagerstow, v. 21, no 10, p. 679-686, 2011.
- MOGHADAM et al. Pre-administration of turmeric prevents methotrexate-induced liver toxicity and oxidative stress. **BMC Complement altern med**, Londres, v. 15, no 246, p. 1-13, 2015.
- NIEDERWIESER et al. Hematopoietic stem cell transplantation activity worldwide in 2012 and a SWOT analysis of the Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation Group including the global survey. **Bone Marrow Transplant. Nova York**. v.51, no 6, p.778-785, 2016.
- NOVIKOFF, S. Pacientes oncológicos. In: Varellis MLZ. **O paciente com necessidades especiais na odontologia** – manual prático. 1. ed. São Paulo: Liv. Santos, p. 461-470, 2005.
- OLIVEIRA, J.A.P.; DIB, L.L.; SOARES, A.L. **Atuação odontológica em pacientes oncológicos** – suporte e reabilitação. Atualização clínica em odontologia – estomatologia, pacientes especiais e laser. São Paulo: Artes Médicas, 2006. V. 1, p.275-308.
- PATUSSI et al. Clinical assesment of oral mucositis and candidiasis compare to chemotherapeutic nadir in transplanted patients. **Braz Oral Res** , São Paulo. v. 28 p. 1-7, 2014.
- PARK, J.A.; SHIN, H. Y. Influence of genetic polymorphisms in the folate pathway on toxicity after high-dose methotrexate treatment in pediatric osteosarcoma. **Blood Res.**, Seoul, v. 51, no, p.51:50-7, 2016.
- PICO, J.L.; AVILA-GARAVITO, A.; NACCACHE, P. Mucositis: its occurrence, consequences, and treatment in oncology setting. **Oncologist**. Dayton, Ohio, v.3, no 6, p.446-451, 1998.
- PIOTO, L. R. **Estudo de biodisponibilidade relativa entre duas formulações de Metotrexato em plasma humano utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série**. 2007, 94f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) Faculdade de ciências médicas, Universidade de Campinas. Campinas, 2007.
- RABER-DURLACHER, J.E.; ELAD, S.; BARASCH, A. Oral mucositis. **Oral Oncol**. Oxford, v. 46, no 6, p. 452-456M, 2010.
- RAJSKI, S.; WILLIAMS, R.M. DNA cross-linking agents as antitumor drugs. **Chem Rev**. Easton, v.98, no 8, p.2723-2796, 1998.

- RAMOS-E-SILVA, M. et al. Clinical evaluation of fluidex tract of chamomilla recutita for bucal aphthae. **J Drugs Dermatol.**, New York, v. 5, no. 7, p. 612-617, July/Aug, 2006.
- RECOLONS et al. Buccodental health and oral mucositis. Clinical study in patients with hematological diseases. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.** Valencia, v.11, p.E497-E502, 2006.
- ROBIEN, K.; SCHUBERT, M.M.; BRUEMMER, B. Predictors of oral mucositis in patients receiving hematopoietic cel ltransplants for chronic myelogenous leukemia. **J ClinOncol.**, Nova York, v. 22, no 7, p. 1268-1275, 2004.
- ROY-CHOWDHURY J & JANSEN PLM. Bilirrubin metabolism and its disorders. In: ZAKIM D & BOYER T D, eds. **Hepatology** - A text book of liverdisease. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996. V 3.
- SERRA, M.; HATTINGER C.M. Polymorphisms of genes related to Methotrexate response and toxicity in high-dose osteosarcoma. **Expert opin drug metab toxicol**, Londres, v.13, no 1, p.123, 2016.
- SILVA et al. The Impact of Low-Level Laser Therapy on Oral Mucositis and Quality of Life in Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation Using the Oral Health Impact Profile and the Functional Assessment of Cancer Therapy-Bone Marrow Transplantation Questionnaires. **Photomed Laser Surg.** Larchmont, Nova York, v. 33, no 7, p.357-363, 2015.
- SONIS, S.T. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. **Oral Oncology**, Nova York, v. 34, p. 39-43, 1998.
- SONIS, S.T. et al. Oral mucositis and the clinical and economic outcomes of hematopoietic stem-cell transplantation. **J ClinOncol.**, Londres,v. 19, no 8,p. 2201-2205, 2001.
- SONIS, S.T. Pathobiology of mucositis. **SeminOncolNurs.** Orlando, v. 20, p. 11-15, 2004.
- SONIS, S.T. Oral Mucositis. **Anti-Cancer Drugs.** Oxford v. 22, p. 607–612, 2011.
- SURESH et al. Risk-scoring system for predicting mucositis in patients of head and neck cancer receiving concurrent chemoradio- therapy. **J Cancer Res Ther.** Manchester, v.6, no 4, 448-451, 2010.
- TEIXEIRA, J.F. et al. The influence of antineoplastic treatment on the weight of survivors of childhood cancer. **JPediatr.**, Rio de Janeiro, v. 401, p. 1-8, 2016.
- TOHKIN et al. Prediction of severe adverse drug reactions using pharmacogenetic biomarker drug metab. **Drug Metab Pharmacokinet.** Tóquio, v.25, no 2, p.122-133, 2010.
- TULSYAN, S. et al. Significant cant role of CYP450 genetic variants in cyclophosphamide based breast cancer treatment outcomes: a multi-analytical strategy. **ClinChimActa**, Amsterdam, v.434, p.21–28, 2014.

VILLEGAS et al. Ambulatory high-dose methotrexate administration in pediatric osteosarcoma patients at a single institution in Argentina. **J pediatr hematol oncol**, Nova York, v. 39, no 7, p. 349-352, 2017.

VERA-LLONCH et al. Oral mucositis and outcomes of autologous hematopoietic stem-cell transplantation following high-dose melphalan conditioning for multiple myeloma. **J Support Oncol.**, Huntigton, Nova York, v. 5, p.231-235, 2007.

WANG et al.Efficacy of oral cryotherapy on oral mucositis prevention in patients with hematological malignancies undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a meta-analysis of randomized controlled trials. **PLoS ONE**, São Francisco, v.10, no 5, p. e0128763, 2015.

WANG et al.Does high-dose Cytarabine cause more fungal infection in patients with acute myeloid leukemia undergoing consolidation therapy: a multicenter prospective observational study in China. **Medicine (Baltimore)**, Hagerstow, v.95, no 4, p. e2560, 2016.

WANG et al. Induction chemotherapy with dose-modified docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil in Asian patients with borderline resectable or unresectable head and neck cancer. **J Formos Med Assoc.**Taipei, Taiwan,v.16, p. 30015-30018, 2016.

WOHLSCHLAEGER, M.S.N. Prevention and treatment of mucositis: a guide for nurses. **J PediatrOncolNurs**, Philadelphia, v.21, no 5, p.281-287, 2004.

ANEXO

Porto Alegre, 12 de Maio de 2017

Eu, Manoela Domingues Martins, como pesquisadora responsável pelo projeto “ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS CYP2C9 (*rs1799853 e *rs1057910) e ABCC2 (*rs717620) COM A SEVERIDADE DE MUCOSITE BUCAL E EVOLUÇÃO CLÍNICA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, sob registro de número 14-0581, declaro que autorizo a utilização das amostras coletadas no referido projeto para a utilização das amostras coletadas no referido projeto para a utilização no projeto “RELAÇÃO DA METABOLIZAÇÃO DO METOTREXATO COM O DESENVOLVIMENTO DE MUCOSITE BUCAL EM PACIENTES ONCOLÓGICOS PEDIÁTRICOS”.



Manoela Domingues Martins

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estamos convidando a pessoa pela qual você é responsável para participar, como voluntário, da pesquisa “*Estudo da relação entre os polimorfismos CYP2C9 (*2rs1799853 e *3rs1057910) e ABCC2 (*rs717620) com a severidade de mucosite bucal e evolução clínica de pacientes pediátricos*”. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir e caso aceite que seu(sua) filho(a) faça parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa seu(sua) filho(a) não será penalizado de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Justificativas

Durante o tratamento oncológico (quimioterapia e/ou radioterapia) é comum observarmos uma série de efeitos adversos, como a mucosite bucal. Esta se caracteriza por “feridas” na boca que podem causar desconforto, dor e até impedir a ingestão de líquidos e sólidos de acordo com a sua severidade. Além disso, estas lesões podem ser porta e entrada para infecções por fungos e bactérias. 70 a 100% dos pacientes submetidos a este tratamento desenvolvem esta complicação. Atualmente acredita-se que o grau de severidade da mucosite está associado a variações em alguns genes que são responsáveis por metabolizar e eliminar os componentes do tratamento quimioterápico.

Sendo assim, este estudo irá associar dois genes (CYP2C9 (*2rs1799853 e *3rs1057910) e ABCC2 (*rs717620)) com a severidade de mucosite bucal em pacientes que estejam recebendo quimioterapia com metotrexato, ciclofosfamida ou doxorrubicina.

Procedimentos do estudo

Se aceitar participar do estudo, será realizada previamente ao tratamento quimioterápico uma adequação bucal. Esta é uma consulta odontológica em que, se o paciente apresentar necessidade de tratamento (cárie, tártaro, etc) o receberá. Ao iniciar a quimioterapia, será realizada uma coleta de sangue para assistência de acordo com a rotina do tratamento. Neste momento serão coletados 3mL (equivalente a uma colher de café) de sangue a mais para a pesquisa. O paciente que participar da pesquisa receberá 04 avaliações: no dia em que iniciar o tratamento, 5, 10 e 15 dias após o início do tratamento. Nestes dias o pesquisador examinará a boca do paciente para ver se existe alguma lesão, e avaliará se este está sentindo dor na boca, se está conseguindo comer e ingerir líquidos. Além disso, serão analisadas informações clínicas contidas no prontuário do paciente. O não comparecimento a uma destas 04 avaliações implica na retirada do paciente do estudo. Uma vez que o paciente apresente alguma lesão de mucosite, ele receberá o tratamento de laserterapia. O laser é aplicado na lesão fazendo com que esta cicatrize mais rápido. Além disso, em caso de apresentar algum problema dentário, o paciente receberá tratamento adequado para este.

Benefícios, riscos e/ou desconfortos associados à participação no estudo

Como benefício a participação desta pesquisa, o paciente receberá suporte odontológico antes de iniciar o tratamento, e havendo necessidade durante o tratamento. Em caso de mucosite bucal, o participante receberá aplicações de laser como tratamento. No entanto, esta terapia é oferecida a todos os pacientes do Serviço de Oncologia Pediátrica (SOP) do HCPA, e o participante poderá receber mesmo que não participe do estudo.

Os riscos relacionados a pesquisa são mínimos, e se configuram por serem inerentes aos procedimentos já realizados assistencialmente, como a coleta de sangue. Durante as consultas odontológicas e eventual tratamento dentário (quando necessário) o paciente poderá relatar dor ou desconforto devido as lesões apresentadas, contudo estas serão minimizadas de acordo com protocolos do estudo.

Voluntariedade

A pessoa pela qual você é responsável não é obrigada a participar deste estudo e a recusa ou desistência de participação na pesquisa, no momento em que desejar, não acarretarão qualquer penalidade.

Ressarcimento

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação no estudo e o participante não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Confidencialidade dos dados

Os pesquisadores se comprometem em manter a confidencialidade dos dados de identificação pessoal dos participantes e os resultados serão divulgados de maneira agrupada, sem a identificação dos indivíduos que participaram do estudo.

Esclarecimentos e contatos

Todas as dúvidas poderão ser esclarecidas antes e durante o curso da pesquisa com a pesquisadora responsável Manoela Domingues Martins e com a pesquisadora Marina Curra no Departamento de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que fica na Rua Ramiro Barcelos, 2492, 5º andar, sala 503, ou através do telefone 33085011, das 8h às 18h.

O Comitê de Ética em Pesquisa também poderá ser contatado para esclarecimento de dúvidas, no 2º andar do HCPA, sala 2227, ou através do telefone 33597640, das 8h às 17h, de segunda à sexta;

Declaro ter sido convenientemente esclarecido(a) e fui informado(a) que os procedimentos a serem adotados respeitam as respectivas declarações e resoluções que rezam sobre o assunto.

Nome do participante _____

Assinatura _____(se aplicável)

Nome do responsável _____

Assinatura _____

Nome do pesquisador _____

Assinatura _____
(aquele que conduziu o processo de consentimento)

Local e data: