## MICHELLE PALMIERI



Detecção dos herpesvirus humanos na mucosa oral de pacientes irradiados para tratamento de carcinoma epidermoide em região de cabeça e pescoço

São Paulo

#### **MICHELLE PALMIERI**

Detecção dos herpesvirus humanos na mucosa oral de pacientes irradiados para tratamento de carcinoma epidermoide em região de cabeça e pescoço

# Versão Original

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, para obter o título de mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique

Braz-Silva

São Paulo

2016

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

#### Catalogação-na-Publicação

#### Serviço de Documentação Odontológica

Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Palmieri, Michelle.

Detecção dos herpevirus humanos na mucosa oral de pacientes irradiados para tratamento de carcinoma epidermoide em região de cabeça e pescoço / Michelle Palmieri : orientador Paulo Henrique Braz-Silva. -- São Paulo, 2016.

91p: ilus., tab., graf., ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Área de Concentração: Patologia e Estomatologia Básica e Aplicada. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original.

1. Herpesvirus humano. 2. Radioterapia - Odontologia. 3. Carcinoma epidermoide. 4. Mucosite oral. I. Paulo Henrique Braz-Silva. II. Título.

Palmieri M. Detecção dos herpesvirus humanos na mucosa oral de pacientes irradiados para tratamento de carcinoma epidermoide em região de cabeça e pescoço. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Aprovado em:	/	/ 2016
--------------	---	--------

#### Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a)		
Instituição:	Julgamento:	
Prof(a). Dr(a)		
Instituição:	Julgamento:	
Prof(a). Dr(a)		
Instituição:	Julgamento:	

Dedico esse trabalho a meus pais Zilá e Sidney, que me estimularam e incentivaram para que eu pudesse fazer sempre o meu melhor.

Dedico também a meus irmãos Maurício e René, que me mostraram, cada um a seu modo, que nunca devemos desistir.

Ao meu namorado Jonathan, que apesar das ausências, sabe que estamos juntos, buscando a excelência profissional.

Dedico também a meus amigos, que compreenderam a minha ausência, quando ela se fez necessária, para que esse trabalho pudesse ser concluído.

Dedico aos meus professores que dividiram comigo seus conhecimentos, fazendo parte essencial da minha formação.

E Dedico aos meus colegas de pós-graduação, que me ajudaram e apoiaram para que esse trabalho pudesse ser finalizado.

A todos vocês meu muito obrigado.

"Juntos somos mais fortes ."

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Henrique Braz-Silva que desde o início me incentivou e orientou para que o trabalho fosse realizado.

Agradeço ao meu colega Dr. Victor Adriano de Oliveira Martins pela grande ajuda na parte laboratorial do projeto.

Agradeço a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, minha casa desde a graduação, lugar em que fiz grandes amizades que levarei para vida toda.

Agradeço aos professores do Programa de Pós-graduação em Patologia e Estomatologia Básica e aplicada, pela dedicação e profissionalismo.

Vocês foram fundamentais na minha formação.

Agradeço aos dentistas e auxiliares do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octávio Frias de Oliveira – ICESP, principalmente na figura de sua coordenadora, Dra. Thaís Bianca Brandão, que colaboram grandemente para a realização deste trabalho.

Agradeço a todos os pacientes do ICESP por aceitarem participar dessa pesquisa e fazerem com que esse trabalho fosse possível.

Agradeço aos colegas do Laboratório de Virologia (LIM-52) do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo – IMTSP, na figura da Profa. Laura Masami Sumita e Profa. Dra. Tania Regina Tozzeto, que foram fundamentais na realização da parte laboratorial do trabalho.

Agradeço à Profa. Dra. Luciana Corrêa pelas análises estatísticas desse trabalho.

Agradeço a colaboração de todos que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado

A strong person is not the one who doesn't cry.
A strong person is the one who cries and shed tears for a moment,
then gets up and fights again.
(autor desconhecido)

#### **RESUMO**

Palmieri M. Detecção dos herpesvirus humanos na mucosa oral de pacientes irradiados para tratamento de carcinoma epidermoide em região de cabeça e pescoço [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Original.

A radioterapia para tratamento das neoplasias malignas em região de cabeça e pescoço é acompanhada de diversas complicações, decorrentes do comprometimento dos tecidos radiossensíveis localizados próximos ao tumor. Entre essas complicações a mucosite é a que merece maior destaque. A mucosite é uma reação tóxica inflamatória da mucosa oral causada pelo tratamento citorredutivo induzido pela radioterapia (RT) ou pela quimioterapia (QT). Ela manifesta-se com sinais de edema, eritema, úlcera e formação pseudomembrana, resultando em sintomas de ardência, que pode progredir para dor intensa e consequente prejuízo na alimentação e comunicação verbal. Infecções bacterianas, fúngicas ou virais podem acometer a mucosa bucal irradiada e exacerbar a manifestação da mucosite oral por meio da ativação de fatores de transcrição da resposta inflamatória. Existem poucos dados na literatura sobre a participação dos herpesvirus humanos na mucosite oral induzida pela radioterapia. A proposta desse trabalho foi avaliar a excreção oral dos herpesvirus humanos (HSV-1, HSV-2, EBV, CMV, VZV, HHV6, HHV7 e HHV8) e sua possível associação com o desenvolvimento e agravamento da mucosite oral, em pacientes diagnosticados com carcinoma epidermoide (CEC) de boca e orofaringe, submetidos à radioterapia associado à quimioterapia. Nesse estudo foram analisadas 158 amostras de lavado bucal, de 20 pacientes, submetidos à radioterapia para CEC em região de cabeça e pescoço, coletadas semanalmente, durante todo o tratamento. Foi realizada a extração do DNA dessas amostras e em seguida sua amplificação através da PCR utilizando dois conjuntos de primers: HSVP1/P2 para os subtipos HSV-1, HSV-2, EBV, CMV e HHV-8 e o VZVP1/P2 para os subtipos VZV, HHV-6 e HHV-7. As amostras positivas foram submetidas à digestão enzimática com enzimas de restrição BamHI e BstUI para determinação específica de cada um dos oito herpesvirus. Foi também avaliada clinicamente, a mucosite oral, em cada uma das coletas, seguindo os critérios da OMS e NCIC. As análises da

amostra mostraram a excreção do EBV, HHV-6 e HHV-7, em todas as semanas de tratamento radioterápico, enquanto que a excreção do HSV1 não pode ser observada no momento da triagem. Considerando-se todos os períodos em conjunto (Triagem, semanas de radioterapia e Controle), a maior frequência foi de pacientes que excretaram EBV (55,0%), seguida daqueles que excretaram HHV-7 (20,5%). A frequência de excreção de EBV foi significativamente maior do que a dos demais vírus (Teste  $\chi^2$ , p<0.001 para todos os cruzamentos). A frequência de excreção de HHV-7 foi significativamente maior do que a de HSV-1 (5,9%) e HHV-6 (5,5%) (Teste  $\chi^2$ , p=0.001 para ambos os cruzamentos). Não houve diferenças estatísticas significantes entre as frequências de HSV-1 e HHV-6. Como conclusão, verificou-se uma correlação positiva entre a excreção oral do EBV e a presença de mucosite induzida pela associação de radioterapia e quimioterapia com graus ≥2, sobretudo se considerarmos as três últimas semanas de radioterapia, período este em que a severidade da mucosite foi estatisticamente maior. Esses achados nos possibilitam inferir que o ambiente inflamatório local de mucosites com grau ≥2 seja mais favorável para excreção oral do EBV.

Palavras-chave: Herpesvirus humano. Radioterapia. Carcinoma epidermoide. Mucosite oral.

#### **ABSTRACT**

Palmieri M. Detection of human herpesvirus in oral mucosa of patients undergoing radiotherapic treatment for head and neck squamous cell carcinoma [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2016. Versão Original.

The radiotherapy (RT) treatment for head and neck tumors is accompanied by various complications resulting from the damage of the radiosensitive tissues located close to the tumor. Among these complications, mucositis is the one that deserves a special attention. Mucositis is an inflammatory toxic reaction of the oral mucosa caused by cytoreductive treatment induced by radiotherapy (RT) or chemotherapy (QT). The clinical manifestations of mucositis are: edema, erythema, ulcers and pseudo membrane formation, resulting in symptoms of burning, which may progress to severe pain and consequent loss in deglutition and verbal communication. The development of bacterial, fungal or viral infections, may affect the oral mucosa that has been irradiated, exacerbating the manifestation of oral mucositis through the activation of transcription factors of the inflammatory response. There are few data in the literature on the participation of human herpesvirus in oral mucositis caused by radiotherapy treatment. The aim of this study is to evaluate the oral excretion of human herpesvirus (HSV-1, HSV-2, EBV, CMV, VZV, HHV6, HHV7 and HHV-8) and its possible association with the development and aggravation of oral mucositis, in patients diagnosed with squamous cell carcinoma (CEC) of oral cavity and oropharynx, undergoing radiotherapy treatment associated with On our study, we analyzed 158 oral rinsing samples, chemotherapy. collected weekly, from 20 patients during the whole radiotherapy treatment for squamous cell carcinoma in head and neck. From these samples, we extracted the DNA and afterwards we amplified them with PCR using two sets of primers: HSVP1/P2 for the subtypes HSV-1, HSV-2, EBV, CMV, and HHV-8 and VZVP1/P2 for the subtypes VZV, HHV 6, and HHV-7. The positive samples were subjected to enzymatic digestion with BamHI and BstUI restriction enzymes for specific determination of each one, of the eight's herpesvirus. It has also been clinically evaluated in each time, the oral mucositis, following the

WHO and NCIC criteria. The analysis of the sample showed the excretion of EBV, HHV-6 and HHV-7, in all the weeks of radiotherapy, whereas the excretion of HSV-1 could not be observed during screening. Considering all periods together (Screening, weeks of radiotherapy and Follow up), the highest frequency was of patients with EBV excretion (55.0%), followed by those with HHV-7 excretion (20.5%). EBV shedding frequency was significantly higher than the other viruses ( $\chi^2$  test, p <0.001 for all junctions). The frequency of HHV-7 excretion was significantly higher than the HSV-1 excretion (5.9%), and HHV-6 excretion (5.5%) ( $\chi^2$  Test, p = 0.001 for both junctions). There were no statistically significant differences between the frequencies of HSV-1 and HHV-6. In conclusion, there was a positive correlation between oral EBV excretion and the presence of grade ≥2 of mucositis caused by radiotherapy associated with chemotherapy, particularly if we consider the last three weeks of radiotherapy, a period in which the severity of mucositis was statistically higher. These findings allow us to infer that the local inflammatory environment of mucositis grade ≥2, is more favorable for oral excretion of EBV.

Key Words: Human herpesvirus. Radiotherapy. Squamous cell carcinoma. Oral mucositis.

#### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASC área da superfície corporal

AVC Acidente vascular cerebral

CEC Carcinoma epidermoide

CAV Adenovírus Canino

CMV Citomegalovírus

D direito

DNA ácido desoxirribonucleico

E esquerdo

EBV Vírus Epstein-Barr

EVN escala verbal numérica

FOUSP Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Gy Gray

HHV-6 Herpes Vírus Humano tipo 6

HHV-7 Herpes Vírus Humano tipo 8

HSV-1 Herpes simples humano tipo 1

HSV-2 Herpes simples humano tipo 2

ICESP Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octávio Frias de Oliveira

IgG Imunoglobulina G

IgM Imunoglobulina M

IL-6 Interleucina 6

IL-1β Interleucina 1 beta

IMTSP Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo

mg miligramas

min minutos

ml mililitros

m2 metros quadrados

NCIC National Cancer Institute Common Toxicity Criteria

NF-κβ Factor nuclear kappa B

OMS Organização Mundial da Saúde

PCR Reação da polimerase em cadeia (PanHerpes)

QT quimioterapia

RT radioterapia

s segundos

SNE sonda naso-enteral

TCTH transplante de células tronco hematopoiéticas

TNFα Fator de necrose tumoral alfa

UTI Unidade de terapia intensiva

VZV Varicela-zoster

3D-RT radioterapia Tridimensional

# LISTA DE SÍMBOLOS

- ºC graus Celsius
- μl microlitros
- ® marca registrada
- % por cento

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
3 PROPOSIÇÃO	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	21
5 RESULTADOS	33
6 DISCUSSÃO	60
7 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68
APÊNDICES	76
ANEXOS	89

# 1 INTRODUÇÃO

A radioterapia (RT) para tratamento das neoplasias malignas em região de cabeça e pescoço é acompanhada de diversas complicações decorrentes do comprometimento dos tecidos radiossensíveis localizados próximos ao tumor (Johansson et al., 2004; Fang et al., 2008; Parvathaneni et al., 2012). Estas complicações têm sido classicamente divididas em complicações agudas e crônicas ou tardias. As complicações bucais agudas incluem a mucosite oral, a xerostomia e a disgeusia ou alteração do paladar. As complicações bucais tardias são caracterizadas pela persistência da hipossalivação e xerostomia, trismo, cáries, doença periodontal progressiva e pelo aumento do risco de osteorradionecrose (Jensen et al., 1994; Andrews; Griffiths, 2001; Sonis et al., 2004; Scully et al., 2004; Lalla et al., 2008; Mosel et al., 2011).

A mucosite é uma reação tóxica inflamatória da mucosa oral causada pelo tratamento citorredutivo induzido pela radioterapia (RT) ou pela quimioterapia (QT) (Lalla et al., 2008; Chen al., 2011; Gouveia de Lima et al., 2012; van de Beek et al., 2012). Ela manifesta-se com sinais de edema, eritema, úlcera e formação de pseudomembrana, resultando em sintomas de ardência, que pode progredir para dor intensa e consequente prejuízo na alimentação e comunicação verbal (Lopes; Mendes, 2000; Lalla et al., 2008; Zanin et al., 2010; Tolentino et al., 2011).

Infecções bacterianas, fúngicas ou virais podem acometer a mucosa bucal irradiada e exacerbar a manifestação da mucosite oral por meio da ativação de fatores de transcrição da resposta inflamatória (Melkos et al., 2003; Lalla et al., 2008; Zanin et al., 2010).

A família *Herpesviridae* é composta pelos vírus do herpes simples humano tipo 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2), citomegalovírus (CMV), varicela-zoster (VZV), Epstein-Barr (EBV) e pelas variantes 6, 7 e 8 (Roizman et al.,1993; Chang et al., 1994; Johnson et al., 2000).

A reativação do vírus herpes simples (HSV-1 e HSV-2) tem sido relatada como um importante fator capaz de exacerbar a mucosite oral (sobretudo associada à quimioterapia) não somente por meio do estimulo à produção de mediadores da inflamação como o NF-κβ, mas também por meio da manifestação clínica

caracterizada pelo surgimento de vesículas intra-epiteliais ou de úlceras herpéticas, que agravam a sintomatologia da mucosite oral (Wagner, 1994; Oakley et al., 1997; Sonis, 2002; Chen et al., 2011; van der Beek et al., 2012).

Até o momento, a possível associação entre a excreção salivar dos herpevirus humanos e o desenvolvimento da mucosite oral induzida por radiação, não está bem estabelecida na literatura, sendo um assunto controverso, com resultados por vezes conflitantes (Redding et al., 1990; Nicolatou-Galitis et al., 2001; Epstein et al., 2002; Trotti et al., 2003; Nicolatou-Galitis et al., 2006; Correia et al., 2015).

# 2 REVISÃO DA LITERATURA

As neoplasias malignas em região de cabeça e pescoço são a 5º mais prevalente no Brasil, com mais de 15000 pessoas acometidas anualmente. Estimam-se, para o ano de 2016, 11.140 casos novos de câncer da cavidade oral em homens e 4.350 em mulheres (INCA, 2015) e aproximadamente 90% das neoplasias malignas em região de cabeça e pescoço são diagnosticadas como carcinoma epidermoide (CEC) (Argiris et al., 2008; Cognetti et al., 2008).

A Radioterapia é uma técnica de tratamento antineoplásico capaz de proporcionar altas taxas de controle do crescimento tumoral para as neoplasias com estadiamento 1 (80%) e estadiamento 2 (60-70%) enquanto permite preservar importantes estruturas anatômicas (Halperin et al., 2004; Bhide et al., 2007; Bhide; Nutting, 2010).

A mucosite oral é uma sequela aguda frequente da radioterapia para tratamento dos tumores malignos em região de cabeça e pescoço, podendo inclusive levar à interrupção do tratamento antineoplásico (Andrews; Griffths, 2001; Sonis et al., 2004; Scully et al., 2004; Fang et al., 2008).

É bem estabelecida na literatura a correlação entre a excreção salivar do vírus herpes simples (HSV-1), e o desenvolvimento de mucosite oral severa em pacientes imunodeprimidos por meio de quimioterapia para tratamento de neoplasias malignas (Rüpping et al., 2011; Van der Beek et al., 2012). Entretanto, não existem estudos que identifiquem a importância da família Herpesviridae como um todo na manifestação da mucosite oral decorrente da radioterapia, ou mesmo de sua associação com a quimioterapia (Redding et al., 1990; Nicolatou-Galitis et al., 2001; Epstein et al., 2002; Trotti et al., 2003; Nicolatou-Galitis et al., 2006; Correia et al., 2015).

As infecções pelo HSV-1 em pacientes com câncer tratados pela quimioterapia são bem documentadas (Yahav et al., 2009; Chen et al., 2011; Elad et al., 2010; Grabber et al., 2011; Aggarwal et al., 2014). Van Der Beek et al. (2012) estudaram a correlação entre a presença e a localização de lesões bucais ulcerativas e a presença dos vírus da família *Herpesviridae* em pacientes submetidos a transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH). Os autores verificaram a presença de HSV-1 na saliva de 80% dos pacientes, e concluíram que

a excreção salivar de HSV-1 mostrou relação significante com o surgimento de mucosite oral severa (graus II, III, IV, segundo a Organização Mundial da Saúde - OMS) em pacientes transplantados. Rüpping et al. (2011) descrevem uma forte associação entre a presença do HSV-1 na saliva e a severidade da mucosite em pacientes imunodeprimidos devido ao tratamento quimioterápico para TCTH.

A interação entre os outros membros da família do *Herpesviridae*, como o vírus Epstein-Barr (EBV) e o agravamento ou desencadeamento da mucosite oral em pacientes submetidos a tratamentos antineoplásicos ainda não foi bem esclarecido. Em um estudo de Ambinder et al. (1985), pacientes imunodeprimidos devido ao tratamento quimioterápico, apresentaram 19-25% das amostras de saliva positivas para o EBV. Em outro estudo, de van der Beek et al. (2012), 98% dos pacientes imunodeprimidos devido ao tratamento quimioterápico para TCTH, apresentaram amostras positivas de EBV na cavidade oral. Apesar da excreção positiva do EBV na cavidade oral, a correlação com o desenvolvimento de mucosite oral ou de mucosite oral severa (graus II, III, IV, segundo a OMS) ainda não pode ser claramente estabelecida. (Ambinder et al., 1985; Van der Beek et al., 2012).

O papel das infecções virais nas complicações bucais associadas à RT é pouco estudado e os resultados descritos na literatura são contraditórios. Bubley et al. (1989) descrevem a diminuição significativa da incidência de culturas positivas para o vírus do herpes tipo 1 (HSV-1) em pacientes submetidos ao tratamento quimioterápico ou radioterápico, que fizeram uso de medicação antiviral concomitantemente. Já Redding et al. (1990) encontraram resultados negativos para culturas de vírus HSV-1 de lesões em boca de pacientes sob diferentes regimes de RT. Oakley et al. (1997) publicaram o relato de dois casos onde foi identificada infecção por HSV-1 concomitante à RT. Os autores sugerem que o tratamento radioterápico possa causar um estado transitório de imunossupressão, contribuindo assim para a reativação do vírus. Epstein et al. (2002) contestam a eficácia do emprego terapias antivirais profiláticas associadas aos tratamentos radioterápicos para amenizar a mucosite oral. Os autores alegam que a prevalência da expressão viral em pacientes irradiados é muito baixa para justificar o uso profilático de medicações antivirais.

Em 2001 Nicolatou-Galitis et al. publicaram os resultados de um projeto-piloto que avaliou a presença do HSV-1 em 14 pacientes sob tratamento de radioterapia em região de cabeça e pescoço associado à quimioterapia. Os autores encontraram

amostras positivas para o HSV-1 no descamado bucal em 5 indivíduos de um total de 14 pacientes irradiados para tratamento de diferentes neoplasias em região de cabeça e pescoço. Em 2006 os mesmos autores apresentaram os resultados de uma coorte para acompanhamento de 60 pacientes irradiados em cabeça e pescoço, avaliados com relação ao grau de mucosite e a presença do HSV-1 em lesões ulcerativas na mucosa bucal. A incidência de infecção viral ativa durante a RT em cabeça e pescoço foi de 29,1%. Nicolau-Galitis (2006), Glenny et al. (2009) e Elad et al. (2010), justificam o uso profilático de antivirais para a prevenção do surgimento de lesões ulceradas de origem viral na mucosa bucal e nos lábios de pacientes sob tratamento antineoplásico por QT ou RT.

Em 2015, Correia et al. avaliaram a prevalência do HSV1-2 no sangue (IgG e IgM) de pacientes submetidos a tratamento radioterápico e correlacionaram com o agravamento da mucosite oral durante o tratamento. Os autores concluíram que não existe correlação entre a reativação do HSV1-2 e o agravamento da mucosite oral nos pacientes avaliados.

A detecção viral por meio de lavado bucal é um método de coleta de material biológico pouco invasivo e reprodutível, que permite identificação de diferentes tipos de vírus por meio da técnica da reação da polimerase em cadeia (*polimerase chain reaction – PCR*) (Heath et al., 2001; D'Souza et al., 2005; Fatahzadeh et al., 2013, Aggarwal et al., 2014).

Até a presente data, existem poucos trabalhos na literatura que identifiquem possíveis correlações entre a excreção dos herpevirus humanos no desenvolvimento e no agravamento da mucosite oral em pacientes irradiados. Dentro deste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a excreção dos herpesvirus humanos 1 ao 8, no lavado bucal de pacientes irradiados em região de cabeça e pescoço para tratamento do CEC em boca e orofaringe.

# 3 PROPOSIÇÃO

Avaliar a excreção oral dos herpes vírus humano (HSV-1, HSV-2, EBV, CMV, VZV, HHV6, HHV7 e HHV8) e sua possível correlação com o desenvolvimento e agravamento da mucosite oral, em pacientes diagnosticados com carcinoma epidermoide (CEC) de boca e orofaringe, sob tratamento radioterápico associado à quimioterapia.

# **4 MATERIAL E MÉTODOS**

#### 4.1 Atendimento às normas de bioética

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octávio Frias de Oliveira – ICESP, número do parecer NP 620/14; datado em 02/04/2014 (Anexo A) e também pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, número CAAE 37922114.9.0000.0065, número do parecer 910.924; aprovado em 12/12/2014 (Anexo B). O Termo de consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) foi aplicado a todos os indivíduos que aceitaram participar da pesquisa, anteriormente ao início das coletas.

## 4.2 Casuística

Foram incluídos nesse projeto 50 indivíduos adultos, de ambos os sexos, atendidos no ambulatório de triagem do Departamento de Odontologia do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octávio Frias de Oliveira – ICESP. Os pacientes selecionados atenderam aos seguintes critérios de inclusão: diagnóstico prévio de carcinoma epidermoide (CEC) em região de cabeça e pescoço e como protocolo de tratamento associação de radioterapia tridimensional (3D-RT) com dose total de 60 Gy e quimioterapia (cisplatina 100mg/m2).

O tratamento radioterápico foi realizado com radioterapia tridimensional (3D-RT) com dose total de 60 Gy, dividida em 30 frações (sessões) diárias, de segunda-feira a sexta-feira, com pausas nos finais de semana com duração média de 6 semanas.

O tratamento quimioterápico foi realizado com cisplatina 100mg/m2 (da área da superfície corporal - ASC), em 3 ciclos a cada 21 dias, (dia 1, 22 e 43), iniciando no primeiro dia da radioterapia.

#### 4.3 Protocolo de atendimento ambulatorial

## 4.3.1 Triagem

Os pacientes foram atendidos no Departamento de Odontologia do ICESP, no ambulatório de triagem, onde foram triados e selecionados aqueles que se enquadravam nos critérios de inclusão propostos. Em um primeiro momento, esses pacientes foram orientados quanto às complicações bucais durante e após o tratamento radioterápico (mucosite, disfagia, xerostomia e disgeusia) bem como as recomendações para minimizá-las.

Em seguida foi realizada a anamnese. Um questionário com dados do paciente e história médica pregressa, foi preenchido pelo pesquisador através de informações obtidas no prontuário médico e questionamento direto ao paciente. Dados demográficos (gênero e idade), localização do tumor, estagio do tumor e grau de mucosite, disfagia, xerostomia e disgeusia foram relatados no questionário. A ficha de anamnese encontra-se no Apêndice B.

#### 4.3.2 Ambulatório pré radioterapia

Na sequência à triagem, os pacientes seguiram para o ambulatório pré radioterapia, onde foi realizada a adequação do meio bucal previamente ao tratamento radioterápico. Esta adequação bucal visava eliminar os focos de infecção na cavidade bucal, e para isso foram realizadas exodontias, restaurações diretas e raspagem radicular. Uma vez concluída a adequação bucal, os pacientes estavam então liberados pelo Departamento de Odontologia para iniciar o tratamento radioterápico e foram acompanhados a partir desse momento, no ambulatório de laserterapia.

## 4.3.3 Ambulatório de laserterapia

Todos os pacientes receberam laserterapia profilática, iniciada no primeiro dia da radioterapia e aplicada diariamente, após cada sessão, durante todo o tratamento radioterápico. A laserterapia profilática seguiu o protocolo de laserterapia instituído pelo Departamento de Odontologia do ICESP, que emprega o laser de baixa potência com 10W e 10J por um período de 10 segundos por ponto, segundo o esquema abaixo (Figura 4.1).

3 pontos	2 pontos	1 ponto
3 borda lateral língua D	2 palato mole (D e E)	1 ventre lingual
3 borda lateral língua E	2 assoalho bucal (D e E)	
3 lábio superior		
3 lábio inferior		

D = lado direito / E = lado esquerdo

Figura 4.1 - Protocolo de laserterapia profilática (ICESP) com pontos de aplicação do laser, do lado direito (D) e esquerdo (E) da cavidade oral

A partir do momento em que era observada a primeira úlcera, iniciou-se a laserterapia curativa, empregando-se o laser de baixa potência com 40W e 60J por um período de 1min por úlcera ou ponto (Laser DMC Twin, São Carlos, Brasil). Em associação à laserterapia, realizou-se orientação de higiene, indicação do uso de saliva artificial e administração de medicação analgésica quando necessária.

#### 4.3.4 Ambulatório pós radioterapia ou ambulatório de controle

Decorrido um mês do término do tratamento radioterápico, os pacientes foram encaminhados ao ambulatório pós radioterapia ou ambulatório de controle. Nesse

ambulatório, foram avaliadas as complicações tardias do tratamento, incluindo a mucosite, disfagia, xerostomia e disgeusia.

# 4.4 Avaliação das complicações orais decorrentes da radioterapia

As avaliações das complicações orais decorrentes do tratamento radioterápico foram realizadas inicialmente no ambulatório da triagem, em seguida semanalmente durante todo o tratamento radioterápico (ambulatório de laserterapia) e por fim na consulta de controle de 1 mês após o término do tratamento radioterápico (ambulatório pós radioterapia).

# 4.4.1 Avaliação da mucosite

A mucosite é uma reação tóxica inflamatória da mucosa oral causada pelo tratamento citorredutivo induzido pela radioterapia ou pela quimioterapia (Lalla et al., 2008; Chen et al., 2011; Gouveia de Lima et al., 2012). Sua avaliação, foi feita através de exame clínico da mucosa bucal, realizado por meio de observação clínica visual direta, em todos os momentos de coleta, sempre pelo mesmo cirurgião dentista, seguindo os critérios de classificação descritos pela Organização Mundial de Saúde – OMS e pelo National Cancer Institute Common Toxicity Criteria – NCIC (The World Health Organization Quality of Life Assessment, 1995; Parulekar et al., 1998; Trotti et al., 2003) (Tabelas 4.1 e 4.2). Além disso, a escala verbal numérica (EVN), foi aplicada para descrever a dor em mucosa de cada participante, em cada momento de coleta.

Tabela 4.1 - Avaliação da Mucosite (OMS)

Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Nenhuma alteração	Eritema em mucosa	Eritema e úlceras	Eritema extenso e úlceras	Muitas úlceras
	Sensibilidade	Mucosa dolorida	Dor	Muita dor
		o paciente consegue alimenta-se com alimentos sólidos	o paciente alimenta-se somente com líquidos.	o paciente não consegue se alimentar pela boca.

Tabela 4.2 - Avaliação da Mucosite (NCIC)

Grau 0	Grau 1		Grau 2	Grau 3	Grau 4
Nenhuma	Eritema	em	Placas	Placas	Necrose ou ulcerações
alteração	mucosa		pseudomembranosas	pseudomembranosas	profundas; pode
			não contínuas	confluentes	apresentar sangramento
					não induzido por traumas
			(< 1,5cm de diâmetro)	(> 1,5cm de diâmetro)	ou abrasão.

# 4.4.2 Avaliação da disfagia faringeal

A disfagia faringeal é o distúrbio da deglutição, que além de causar desconforto, pode desencadear quadros de desnutrição e desidratação (Mosel et al., 2011). Sua avaliação foi realizada através de questionário seguindo os critérios do National Cancer Institute Common Toxicity Criteria - NCIC (Parulekar et al., 1998) (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 - Avaliação da Disfagia Faringeal (NCIC)

Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Nenhuma alteração	Disfagia moderada	Disfagia presente	Disfagia severa	Obstrução completa
aneração	com consumo de dieta regular	consumo de dieta predominantemente pastosa, mole e líquida	uso de Sonda Naso- Enteral(SNE), Hidratação Intravenosa Ou Hiperalimentação	não se pode engolir saliva, ulcerações com sangramento induzido por traumas, abrasão ou perfuração.

# 4.4.3 Avaliação da xerostomia

A Xerostomia é a secreção insuficiente ou nula de saliva, pelas glândulas salivares (Mosel et al., 2011). Sua avaliação foi realizada através de questionário seguindo os critérios do Seminars in Radiation Oncology (Camphausen, 2009) (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 - Avaliação da Xerostomia

Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3
Nenhuma alteração	Discreta Secura,	Secura em boca,	Secura em boca,
	sem interferência nos hábitos alimentares	requer líquido para engolir.	alteração na dieta, interferência no sono, fala ou outras atividades.

## 4.4.4 Avaliação da disgeusia

A disgeusia é a distorção ou diminuição do senso do paladar (Mosel et al., 2011). Sua avaliação foi realizada através de questionário seguindo os critérios do National Cancer Institute Common Toxicity Criteria – NCIC (Parulekar et al., 1998) (Tabela 4.5).

Tabela 4.5 - Avaliação da Disgeusia

Grau 0	Grau 1	Grau 2
Normal	Paladar discretamente alterado	Paladar fortemente alterado

#### 4.5 Coleta de amostras e armazenamento de material

#### 4.5.1 Lavado bucal

A técnica usada para coleta do lavado bucal consistiu em: orientar o paciente a realizar um bochecho com 05 ml de água destilada por 30 segundos e depositar o líquido bochechado em um tubo coletor tipo Falcon® (50 ml). As amostras foram mantidas em geladeira por 3 horas e posteriormente armazenadas a -80°C.

As coletas do lavado bucal foram realizadas nos seguintes momentos: triagem (antes do inicio da radioterapia), semanalmente durante todo o tratamento radioterápico (ambulatório de laserterapia), e na consulta de controle de 1 mês após o término do tratamento (ambulatório Pós Radioterapia).

#### 4.5.2 Sorologia

A Sorologia para os vírus herpes simples humano (HSV-1 e HSV-2), citomegalovírus (CMV), varicela-zoster (VZV) e Epstein-Barr (EBV) foram realizada no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octávio Frias de Oliveira - ICESP, utilizando-se o método ELISA, por meio de kits comercialmente disponíveis. As solicitações de sorologia foram feitas em três momentos: triagem, na coleta de saliva da última sessão de radioterapia e na consulta controle após 1 mês.

#### 4.6 Processamento laboratorial das amostras

### 4.6.1 Extração de DNA total

Foram coletadas o total de 158 amostras de lavado bucal cujas extrações de DNA, ocorreram no Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo – IMTSP (LIM 52), tomando-se como bases técnicas do método semiautomático da NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux, Durham, Carolina do Norte, EUA). Das amostras coletadas, para leitura do equipamento, foram retiradas 500µl da solução total de lavado bucal de cada uma das amostras, e como controle negativo de leitura, inserido uma solução de 5µl de vacina para Adenovírus Canino (CAV). Todas as amostras foram então, registradas no arquivo digital do programa de leitura do equipamento.

A purificação da amostra foi feita de maneira automatizada, e no segundo momento foi acrescentada a cada amostra, sílica magnética diluída em água destilada e autoclavada (em uma solução total de 550µl, distribuída em partes iguais para cada amostra). Nesta segunda etapa da extração, após o acréscimo da sílica, foi realizada uma nova sequência de lavagem na qual o ácido nucleico ligado à sílica foi purificado e separado dos demais compostos e possíveis contaminantes da amostra, a lavagem foi feita em plano único, o que diminui o risco de contaminação.

O lavado bucal foi então purificado e eluído em uma solução final de 110µl, que foi coletada para posterior identificação do DNA viral por técnica de eletroforese, após sua amplificação via PCR.

# 4.6.2 Reação da polimerase em cadeia (PanHerpes)

Para a Reação da polimerase em cadeia (PCR), foram utilizados os *primers* HSVP1/P2 e VZVP1/P2 que promoveram a reação, utilizando-se de regiões chave do DNA, que conservadas durante a purificação, sofreram lise mediante ação enzimática da DNA polimerase – com base no alinhamento das sequências de DNA dos oito herpesvírus humanos conhecidos descritos por Johnson et al., em 2000. O primeiro set de primers HSVP1 e HSVP2 foi utilizado para amplificação dos subtipos HSV-1, HSV-2, EBV, CMV e HHV8, e para amplificação do DNA dos subtipos VZV, HHV-6 (A e B) e HHV-7, foram utilizados os set de primers VZVP1 e VZVP2. (Tabela 4.6)

Tabela 4.6 - Sequência de bases que caracterizam o DNA da família Herpesviridae

Primers	Sequências (5' – 3')
HSVP1	5'-GTGGTGGACTTTGCCAGCCTGTACCC-3'
HSVP2	5'-TAAACATGGAGTCCGTGTCGCCGTAGATGA-3'
VZVP1	5'-GTCGTGTTTGATTTTCAAAGTTTATATCC-3'
VZVP2	5'-ATAAACACACAATCCGTATCACCATAAATAACCT-3'

As amostras foram inicialmente desnaturadas a 95°C durante 5 min., seguido de 40 ciclos, que incluíram a desnaturação durante 50 s a 94°C, e emparelhamento durante 50s a 62°C com extensão durante 60s a 72°C, sendo a extensão final a

72°C durante 5 min. para HSVP1 / P2; e 95°C durante 5min, seguido de 45 ciclos, o que inclui a desnaturação durante 50s a 94°C e emparelhamento durante 50s a 50°C, e de extensão de 50 a 72°C, sendo a extensão final a 72°C durante 5 min. para VZVP1/P2. Controles positivos foram incluídos (CAV) e controles negativos à base de água. Todas as reações de amplificação foram realizadas em um termociclador PTC 200mJ (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA). Os produtos de PCR foram separados por eletroforese. A reação ocorreu em gel de agarose a 1,75%, e foi corada com brometo de etídio (10mg/ml) (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA) e expostos a luz ultravioleta para a visualização. (Figura 4.2 e 4.3)



Figura 4.2 - Gel PCR (HSV Pan)

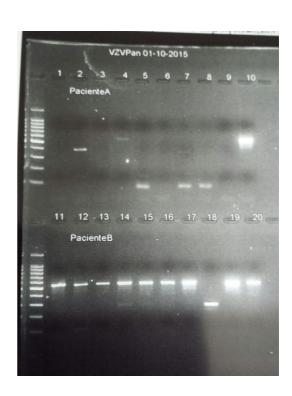


Figura 4.3 - Gel PCR (VZV Pan)

## 4.6.3 Identificação do vírus por enzima de restrição

Cada amostra da reação do HSVP1 / P2 e VZVP1 / P2; em que foram detectados produtos de amplificação foram submetidas à digestão com as enzimas de restrição BamHI e BstUI (New Englands Biolab, Ontario Canadá). (Tabela 5.1). A mistura de digestão consistiu em 10µI de mistura de PCR, 1,5uI de tampão da enzima apropriada, 1uI de enzima, e 2,5µI de água MilliQ para um volume total de 15µI. As amostras reacionais foram incubadas durante 1 hora a 37°C (BamHI) e 60°C (BstUI); respectivamente. Após a digestão, o DNA mostrou fragmentos com padrão característico para cada um dos oito herpesvirus (Johnson et al., 2000). Os produtos da restrição com foram separados por eletroforese. A reação ocorreu em gel de agarose a 1,75%, e foi corada com brometo de etídio (10mg/mI) (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA) e expostos a luz ultravioleta para a visualização. (Figura 4.4)

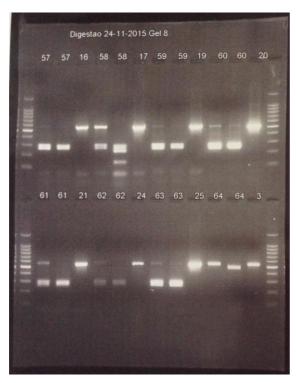


Figura 4 - Gel Digestão enzimática

#### 4.7 Análise estatística

Os dados categóricos foram apresentados em frequência absoluta e relativa. Para comparação das frequências dos graus de mucosite, disfagia, xerostomia, disgeusia e presença de herpesvirus, tanto na totalidade dos períodos analisados quanto de acordo com o momento da radioterapia, foi aplicado o teste de  $\chi^2$  e Exato de Fisher, quando apropriado. Para verificar se havia correlação entre excreção dos diferentes vírus e presença/grau de mucosite e xerostomia, foi realizada análise de correlação de Spearman. O nível de significância adotado foi de 5%. As análises estatísticas foram realizadas por intermédio do programa Biostat 5.0® (Belém, Pará, Brasil).

#### 5 RESULTADOS

#### 5.1 Perfil da amostra

No total foram triados e avaliados 50 pacientes indicados para o tratamento radioterápico associado ao quimioterápico, para Carcinoma Epidermoide em região de Cabeça e Pescoço no ICESP.

Dos 50 pacientes, 42 (84%) eram do gênero masculino e 2 (8%) do gênero feminino, com idade entre 36 e 81 anos, avaliando ambos os gêneros, e média de idade geral de 58,7 anos.

Em relação à localização do tumor, 10 estavam localizados em base de língua (20%), 9 em orofaringe associado a palato mole (18%), 8 em assoalho bucal (16%), 7 em orofaringe associado à base de língua (14%), 5 em trígono retromolar (10%), 4 em borda de língua (8%), 2 em gengiva (4%), 1 em seio maxilar (2%), 1 em palato mole (2%), 1 em orofaringe associado a assoalho bucal (2%), 1 em mucosa jugal (2%) e 1 em orofaringe associado à trígono retromolar (2%) (Gráfico 5.1).

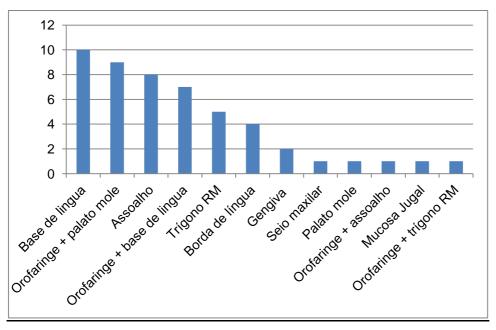


Gráfico 5.1 - Localização do tumor

Quanto ao Estágio, 34 apresentavam Estágio IV do tumor (T4=68%), 7 apresentavam Estágio III do tumor (T3= 14%), 7 apresentavam Estágio II do tumor (T2=14%) e 2 apresentavam Estagio I do tumor (T1=4%) (Gráfico 5.2).

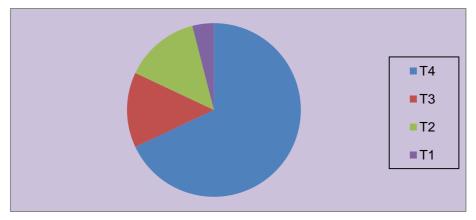


Gráfico 5.2 - Estágio do Tumor

# 5.2 Sorologia

Os resultados da Sorologia Inicial para os vírus pesquisados nesses pacientes, mostrou que em relação ao IgM, 4 pacientes (8%) apresentaram- se como reagentes, sendo 2 (4%) para CMV, 1 (2%) para HSV1-2 e 1 paciente (2%) para VZV. Quarenta e seis (46) pacientes (92%) apresentaram resultados negativos para a sorologia pesquisada (Gráfico 5.3).

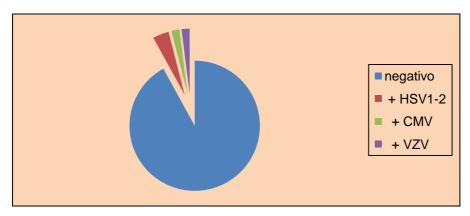


Gráfico 5.3 - Sorologia IgM

Já em relação ao IgG, todos os pacientes (100%) apresentaram-se reagentes para algum vírus, sendo que 45 pacientes (90%) apresentaram sorologia reagente para todos os vírus pesquisados (HSV1-2, CMV, VZV e EBV), 4 pacientes (8%) apresentaram-se reagentes apenas para HSV1-2, VZV e EBV, e 1 paciente (2%) apresentou-se reagente apenas para HSV1-2, CMV e, VZV (Gráfico 5.4).

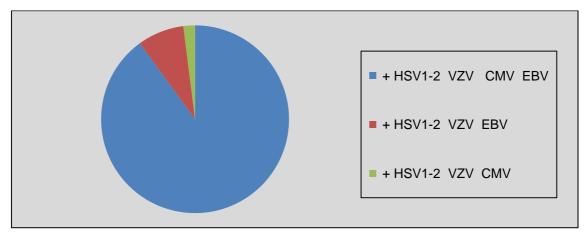


Gráfico 5.4 - Sorologia IgG

## 5.3 Seguimento dos pacientes

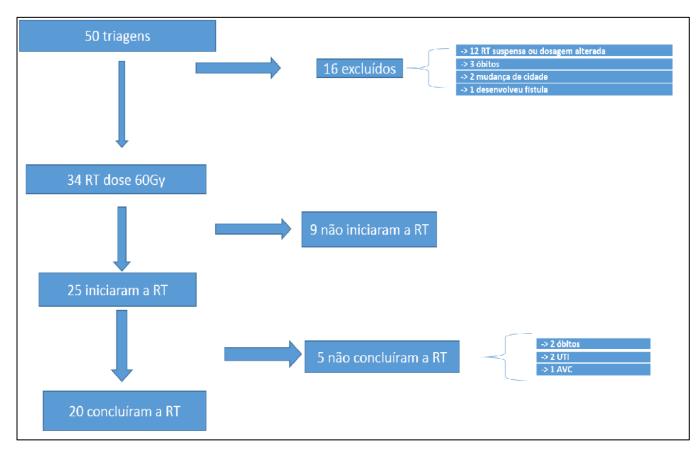


Figura 5.1 - Fluxograma de acompanhamento dos pacientes

Vinte e cinco pacientes (50%), efetivamente iniciaram o tratamento radioterápico, 9 não haviam iniciado o tratamento até o término desse projeto e 16 pacientes (32%) foram excluídos do protocolo por motivos diversos: 12 por suspensão ou mudança na dosagem do tratamento radioterápico (24%), 3 por óbito (6%), 2 por mudança de cidade (4%) e 1 por desenvolvimento de fístula extra oral, o que impediu a coleta do lavado bucal (2%).

Vinte pacientes (40%) concluíram o tratamento radioterápico e tiveram todas as coletas de lavado bucal realizadas nos momentos propostos: triagem, semanalmente durante o tratamento radioterápico (6 semanas) e 1 mês após o término do tratamento. Cinco pacientes (10%) tiveram apenas parte das coletas realizadas, pois não concluíram o tratamento radioterápico devido a: 2 óbitos (4%), 2

internações na UTI e suspensão da radioterapia (4%) e 1 AVC e suspensão da radioterapia (2%) (Figura 5.1).

## 5.4 Complicações orais decorrentes da radioterapia

#### 5.4.1 Avaliação da mucosite oral

## 5.4.1.1 Classificação OMS

No cômputo geral, considerando-se somente as frequências de mucosite observadas no período de tratamento radioterápico (as frequências no período da Triagem e do Controle não foram consideradas devido à grande quantidade de ausência de mucosite), a maior frequência foi de mucosite grau 2 (43.3%), a qual diferiu estatisticamente em relação à frequência de mucosite grau 1 (17,5%; Teste  $\chi_2$ , p=0.002), grau 3 (7,5%; Teste  $\chi_2$ , p<0.001) e grau 4 (1,7%; Teste  $\chi_2$ , p<0.001).

A apresentação clínica da mucosite começou a ser observada a partir da segunda semana do tratamento radioterápico, onde 4 pacientes (20%) apresentaram grau 1 e 2 pacientes (10%) apresentaram grau 2.

Na terceira semana do tratamento radioterápico, o número de pacientes que apresentavam mucosite aumentou, e na quarta semana todos os pacientes apresentavam algum grau de mucosite, 4 pacientes (20%) apresentaram grau 1 de mucosite, 14 pacientes (70%) apresentaram grau 2 e 2 pacientes (20%) apresentaram grau 3 e relataram estar se alimentando somente com alimentos líquidos.

Na quinta e sexta semana do tratamento radioterápico, 4 pacientes (20%) tiveram o grau de mucosite aumentado, sendo que 1 paciente (5%) apresentou grau 4 de mucosite, relatando que não conseguia mais se alimentar por via oral.

Na última coleta (que ocorreu no controle de 1 mês pós radioterapia), o grau de mucosite de todos os pacientes diminuiu, sendo observado que 11 pacientes

(61,1%) apresentaram grau 0 de mucosite, 7 pacientes (38,8%) apresentaram grau 1. Os resultados completos podem ser observados na Tabela 5.1 e no Gráfico 5.5.

Tabela 5.1 - Resultados Mucosite (OMS)

	Triagem* n (%)	1 RT*	2 RT*	3 RT*	4 RT*	5 RT *	6 RT*	Controle**
OMS								
Grau 0	20 (100)	20 (100)	14 (70)	02 (10)	0	0	0	11 (61.1)
Grau 1	0	0	04 (20)	07 (35)	04 (20)	03 (15)	03 (15)	07 (38.8)
Grau 2	0	0	02 (10)	11 (55)	14 (70)	15 (75)	10 (50)	0
Grau 3	0	0	0	0	02 (20)	01 (05)	06 (30)	0
Grau 4	0	0	0	0	0	01 (05)	01 (05)	0

RT = Radioterapia / \*n=20 / \*\*n=18

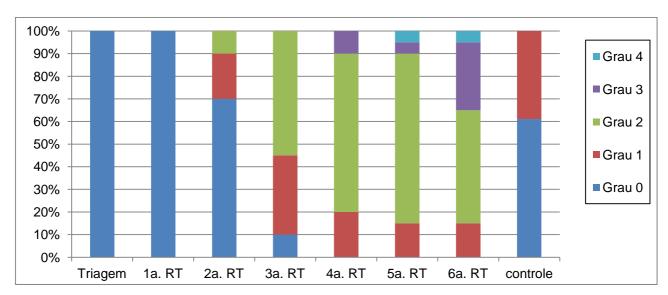


Gráfico 5.5 - Graus de mucosite (OMS) e semanas de tratamento radioterápico

Em relação às semanas de tratamento radioterápico, houve significativamente maior frequência de mucosite envolvendo ulcerações e dificuldade de mastigação e deglutição (graus 2 a 4) nas três últimas semanas de tratamento em comparação às três primeiras semanas (Teste Exato de Fisher, p<0.001).

#### 5.4.1.2 Classificação (NCIC)

Tal qual analisado para a classificação da OMS, considerando-se as frequências dos graus de mucosite pela classificação NCIC nas semanas de tratamento radioterápico (sem considerar os períodos de Triagem e Controle), a maior frequência foi também de mucosite grau 2 (35.0%), a qual diferiu estatisticamente das frequências de mucosite graus 1 (17,5%; Teste  $\chi_2$ , p=0.041), 3 (15,8%, Teste  $\chi_2$ , p=0.021) e 4 (1,7%, Teste  $\chi_2$ , p<0.001).

Comparando-se ambas as classificações (OMS e NCIC), a frequência de mucosite grau 2 foi menor pela NCIC (30,0%) do que pela OMS (43,3%), e da mucosite grau 3 foi bem maior na classificação NCIC (15,8%) do que na OMS (7,5%). Os demais graus tiveram frequência idêntica nas duas classificações.

A apresentação clínica da mucosite começou a ser observada a partir da segunda semana do tratamento radioterápico, em que 4 pacientes (20%) apresentaram grau 1 e 2 pacientes (10%) apresentaram grau 2.

Na terceira e quarta semanas do tratamento radioterápico, o número de pacientes que apresentavam mucosite aumentou, sendo que na quarta semana, todos os pacientes apresentavam algum grau de mucosite, 4 pacientes (20%) apresentaram grau 1, 11 pacientes (55%) apresentaram grau e 5 pacientes (25%) apresentaram grau 3, onde pode ser observado placas pseudomembranosas maiores que 1,5 cm.

Na quinta semana do tratamento radioterápico, 5 pacientes (25%) tiveram o grau de mucosite aumentado, sendo que 1 paciente (5%) apresentou grau 4 de mucosite, onde pode ser observado sangramento espontâneo. Na sexta semana do tratamento radioterápico, 2 pacientes (10%) tiveram o grau de mucosite aumentado, sendo que 1 paciente (5%) apresentou grau 4, com sangramentos espontâneos.

Na consulta de controle de 1 mês pós radioterapia, o grau de mucosite de todos os pacientes diminuiu, sendo observado que 11 pacientes (61.1%) apresentaram grau 0, 7 pacientes (38,8%) apresentaram grau 1. Os dados completos podem ser observados na Tabela 5.2 e no Gráfico 5.6.

Tal qual foi constatado na gradação da OMS, considerando-se as semanas de tratamento, houve significativamente maior frequência de mucosite graus 2 a 4

segundo a NCIC nas três últimas semanas de tratamento radioterápico (Teste Exato de Fisher, p<0.001).

Tabela 5.2 - Resultados Mucosite (NCIC)

	Triagem* n (%)	1 RT*	2 RT*	3 RT*	4 RT*	5 RT *	6 RT*	Controle**
NCIC								
Grau 0	20 (100)	20 (100)	14 (70)	02 (10)	0	0	0	11 (61.1)
Grau 1	0	0	04 (20)	07 (35)	04 (20)	03 (15)	03 (15)	07 (38.8)
Grau 2	0	0	02 (10)	10 (50)	11 (55)	10 (50)	09 (45)	0
Grau 3	0	0	0	01 (05)	05 (25)	06 (30)	07 (35)	0
Grau 4	0	0	0	0	0	01 (05)	01 (05)	0

RT = Radioterapia / \*n=20 / \*\*n=18

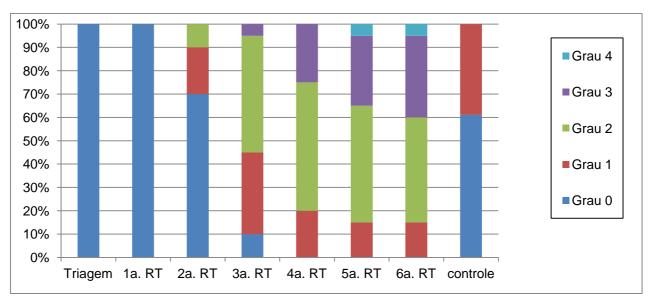


Gráfico 5.6 - Graus de mucosite (NCIC) e semanas de tratamento radioterápico

# 5.4.2 Disfagia faringeal

Em geral, considerando-se em conjunto todos os períodos analisados, houve maior frequência de disfagia graus 1 (31,6%) e grau 3 (28,5%), as quais diferiram

estatisticamente da disfagia grau 2 (14,6%; Teste  $\chi^2$ , p=0.004 e p=0.015, respectivamente para graus 1 e 3) e da disfagia grau 4 (0,6%, Teste  $\chi^2$ , p<0.001 tanto para grau 1 quanto para grau 3).

No momento da triagem, 11 pacientes (55%) apresentaram grau 0, 6 pacientes (30%) apresentaram grau 1 e 3 pacientes (15%) apresentaram grau 3. Os pacientes avaliados com algum grau de disfagia, apresentaram tumores com lesões de dimensões mais extensas e os pacientes avaliados como grau 3, estavam fazendo uso de sonda naso-enteral.

Ao longo das semanas do tratamento radioterápico, os pacientes tiveram o grau de disfagia faringeal aumentado, destacando-se a sexta semana do tratamento radioterápico, onde 5 pacientes (25%) apresentaram grau 1, 6 pacientes (30%) apresentaram grau 2, 8 pacientes (40%) apresentaram grau 3, pois faziam uso de sonda naso-enteral e 1 paciente (5%) apresentou grau 4, relatando não ser possível deglutir nem mesmo saliva.

Na última coleta, correspondente ao controle de 1 mês pós radioterapia, 12 pacientes (66%) tiveram redução no grau de disfagia, sendo que 7 pacientes (38,8) apresentaram grau 0, 5 pacientes (27,7%) apresentaram grau 1 e 6 pacientes (33,3) apresentaram grau 3, pois ainda faziam uso de sonda (naso-enteral). Os dados completos referentes à disfagia podem ser observados na Tabela 5.3 e no Gráfico 5.7.

Considerando-se a ocorrência, nas semanas de radioterapia, das frequências dos graus em que a disfagia acarreta alguma modificação na dieta (graus 2 a 4), observou-se que a maior frequência desses graus ocorreu nas três últimas semanas de tratamento (Teste Exato de Fisher, p<0.001). Na comparação entre o período de Triagem e o Controle, apesar de nesse último ter havido maior frequência de disfagia grau 3 (33,3%) em relação à Triagem (15.0%), essa diferença não foi estatisticamente significante (Teste Exato de Fisher, p=0.260).

Tabela 5.3 -	Resultados	Disfagia	Faringeal

	Triagem* n (%)	1 RT*	2 RT*	3 RT*	4 RT*	5 RT *	6 RT*	Controle**
DISFAGIA	(//,							
Grau 0	11 (55)	09 (45)	07 (35)	03 (15)	01 (05)	01 (05)	0	07 (38,8)
Grau 1	06 (30)	06 (30)	08 (40)	08 (40)	07 (35)	05 (25)	05 (25)	05 (27,7)
Grau 2	0	0	0	04 (20)	06 (30)	07 (35)	06 (30)	0
Grau 3	03 (15)	05 (25)	05 (20)	05 (25)	06 (30)	07 (35)	08 (40)	06 (33,3)
Grau 4	0	0	0	0	0	0	01 (05)	0

RT = Radioterapia / \*n=20 / \*\*n=18

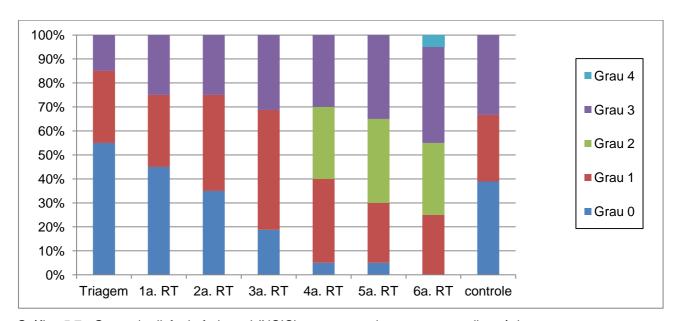


Gráfico 5.7 - Graus de disfagia faringeal (NCIC) e semanas de tratamento radioterápico

## 5.4.3 Xerostomia

Analisando-se as semanas de tratamento radioterápico em conjunto com o período de Controle (sem considerar a Triagem, na qual nenhum paciente exibiu xerostomia), houve maior frequência de xerostomia grau 1 (51,4%), a qual diferiu estatisticamente da xerostomia grau 2 (21,7%; Teste  $\chi^2$ , p<0.001) e grau 3 (3,6%, Teste  $\chi^2$ , p<0.001).

A xerostomia começou a ser observada na primeira semana do tratamento radioterápico, onde 3 pacientes (15%) apresentaram grau 1.

Na quarta semana do tratamento radioterápico, foi observado que todos os pacientes apresentavam algum grau de xerostomia, onde 14 pacientes (70%) apresentaram grau 1 e 6 pacientes (30%) apresentaram grau 2, relatando necessitar de líquido para deglutir. Na sexta semana de acompanhamento, foram observados os maiores graus de xerostomia, onde 6 pacientes (30%) apresentaram grau 1, 10 pacientes (50%) apresentaram grau 2 e 4 pacientes (20%) apresentaram grau 3, ode onde foi observado interferência acentuada na fala.

Na consulta de 1 mês de controle pós radioterapia, 10 pacientes (55%) tiveram a xerostomia reduzida, porém sem remissão completa. Foi observado que 15 pacientes (83,3%) apresentaram grau 1 e 3 pacientes (16%) apresentaram grau 2. Os resultados completos podem ser observados na Tabela 5.4 e no Gráfico 5.8.

Considerando-se os graus de xerostomia que interferem na alimentação (graus 2 e 3) segundo as semanas de tratamento radioterápico, houve frequência significativamente maior desses graus nas três últimas semanas de radioterapia (Teste Exato de Fisher, p<0.001).

Tabela 5.4 - Resultados Xerostomia

	Triagem*	1 RT*	2 RT*	3 RT*	4 RT*	5 RT *	6 RT*	Controle**
	n (%)							
XEROSTOMIA								
Grau 0	20 (100)	17 (85)	11 (55)	04 (20)	0	0	0	0
Grau 1	0	03 (15)	08 (40)	14 (70)	14 (70)	11 (55)	06 (30)	15 (83,3)
Grau 2	0	0	01 (05)	02 (10)	06 (30)	08 (40)	10 (50)	03 (16,6)
Grau 3	0	0	0	0	0	01 (05)	04 (20)	0

RT = Radioterapia / \*n=20 / \*\*n=18

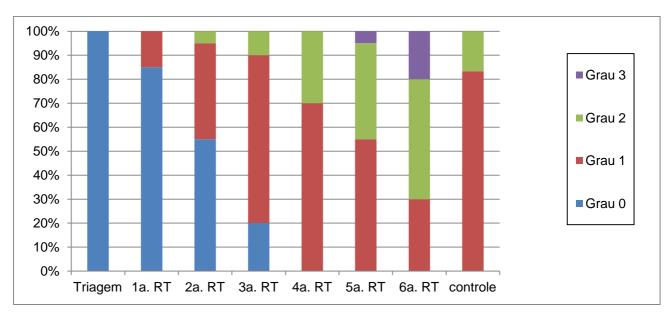


Gráfico 5.8 - Graus de xerostomia e semanas de tratamento radioterápico

### 5.4.4 Disgeusia

Avaliando a disgeusia, no momento da triagem, 17 pacientes (85%) apresentaram grau 0 de disgeusia e 3 pacientes (15%) não puderam ser avaliados pois faziam uso de sonda naso-enteral e não se alimentavam via oral.

Considerando-se as semanas de tratamento radioterápico em conjunto e retirando-se os pacientes que não puderam ser avaliados, a maior frequência foi de disgeusia grau 1 (42,7%), a qual diferiu estatisticamente da disgeusia grau 2 (20,7%, Teste  $\chi^2$ , p=0.043).

A disgeusia começou a ser observada na segunda semana do tratamento radioterápico, onde 7 pacientes (35%) apresentaram grau 0, 8 pacientes (40%) apresentaram grau 1 e 5 pacientes (25%) não puderam ser avaliados pois faziam uso de sonda naso-enteral e não se alimentavam por via oral. A disgeusia foi agravando-se ao longo das semanas de tratamento radioterápico, e na quinta semana de tratamento radioterápico, todos os pacientes que puderam ser avaliados, apresentavam algum grau de disgeusia, 6 pacientes (30%) apresentaram grau 1, 7 pacientes (35%) apresentaram grau 2 relatando estar com paladar fortemente alterado, e 7 pacientes (35%) não puderam ser avaliados pois faziam uso de sonda naso-enteral e não se alimentavam por via oral. Estatisticamente, nas três últimas

semanas de tratamento radioterápico, houve significativamente maior frequência de disgeusia grau 2 em relação às três primeiras semanas de tratamento (Teste Exato de Fisher, p<0.001).

Na última coleta, correspondente ao controle de 1 mês pós radioterapia, 5 pacientes (25%), tiveram o grau de disgeusia reduzido, sendo que 5 pacientes (27,7%) apresentaram grau 0, 5 pacientes (27,7) apresentaram grau 1, 8 pacientes (44,4) não puderam ser avaliados, pois faziam uso de sonda naso-enteral. Os resultados completos podem ser observados na tabela 5.5 e no Gráfico 5.9.

Tabela 5.5 - Resultados Disgeusia

DISGEUSIA	Triagem* n (%)	1 RT*	2 RT*	3 RT*	4 RT*	5 RT *	6 RT*	Controle**
Grau 0	17 (85)	15 (75)	07 (35)	05 (25)	03(15)	0	0	05 (27,7)
Grau 1	0	0	08 (40)	09 (45)	05 (25)	06 (30)	07 (35)	05 (27,7)
Grau 2	0	0	0	01 (05)	05 (25)	07 (35)	04 (20)	0
na	3 (15)	05 (25)	05 (25)	05 (25)	07 (35)	07 (35)	09 (45)	08 (44,4)

RT = Radioterapia / na = não aplicável / \*n=20 / \*\*n=18

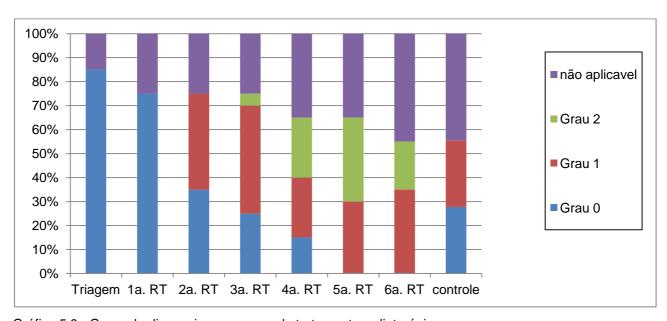


Gráfico 5.9 - Graus de disgeusia e semanas de tratamento radioterápico

## 5.5 Excreção oral dos herpesvirus

Avaliando os resultados da excreção dos herpesvirus humanos na saliva dos pacientes, foi possível observar que 18 pacientes (90%) excretaram EBV, 14 pacientes (70%) excretaram HHV-7, 7 pacientes (35%) excretaram HSV1 e 3 pacientes (15%) excretaram HHV-6. (Gráfico 5.10). Lembrando que 15 pacientes (75%) excretaram mais de um herpesvirus (co-infecção), 4 pacientes (20%) excretaram somente o EBV e 1 paciente (5%) apresentou excreção negativa para hespesvirus.

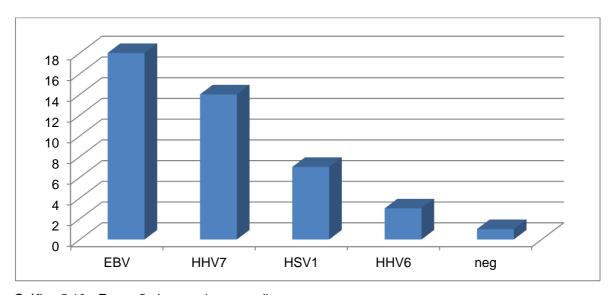


Gráfico 5.10 - Excreção herpesvirus na saliva

Em relação aos 15 pacientes (75%) que apresentaram co-infecções, foi verificado que 6 pacientes (30%) excretaram EBV e HHV-7, 5 pacientes (25%) excretaram EBV, HSV1 e HHV-7, 1 paciente (5%) excretou EBV e HHV-6, 1 paciente (5%) excretou HSV1 e HHV-7, 1 paciente (5%) excretou EBV, HHV-6 e HHV-7 e 1 paciente (5%) excretou EBV, HSV1, HHV-6 e HHV-7. (Gráfico 5.11).

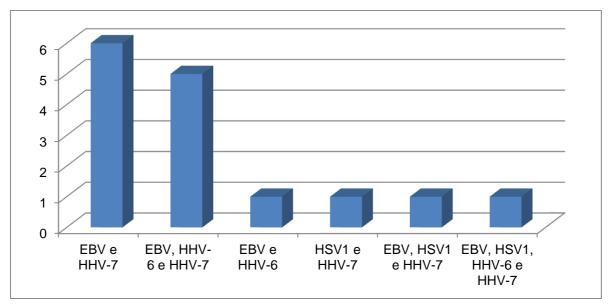


Gráfico 5.11 - Co-infecções

#### 5.5.1 Herpesvirus x semanas de tratamento radioterápico

Em relação aos herpesvirus, foi possível observar a excreção do EBV, HHV-6 e HHV-7 em todas as semanas de tratamento radioterápico, enquanto que a excreção do HSV1 não pode ser observada no momento da triagem. Considerandose todos os períodos em conjunto (Triagem, semanas de radioterapia e Controle), a maior frequência foi de pacientes que excretaram EBV (55,0%), seguida daqueles que excretaram HHV-7 (20,5%). Nesses períodos, 13,2% dos pacientes foram negativos para excreção viral. A frequência de excreção de EBV foi significativamente maior do que a dos demais vírus (Teste  $\chi^2$ , p<0.001 para todos os cruzamentos). A frequência de excreção de HHV-7 foi significativamente maior do que a de HSV1 (5,9%) e HHV-6 (5,5%) (Teste  $\chi^2$ , p=0.001 para ambos os cruzamentos). Não houve diferenças estatísticas significantes entre as frequências de HSV1 e HHV-6. (Tabela 5.6)

No momento da triagem, 11 pacientes (55%) apresentaram excreção do EBV, 7 pacientes (35%) apresentaram excreção do HHV-7, 1 paciente (5%) apresentou excreção do HHV-6 e 7 pacientes (35%) apresentaram excreção negativa para herpesvirus.

Ao longo das semanas do tratamento radioterápico, observou-se um aumento do número de pacientes que excretaram EBV, chegando a 17 pacientes (85%) na segunda semana de tratamento radioterápico. Em termos estatísticos, não houve diferenças entre as frequências de pacientes que excretaram o EBV nas três primeiras semanas de radioterapia em relação às três últimas semanas desse tratamento. Comparando-se a frequência de EBV no momento da Triagem (11 pacientes, 55,0%) com aquela no momento do Controle (16 pacientes, 80,0%), também não houve diferenças estatisticamente significantes.

O HHV-7 teve sua excreção observada em um maior número de pacientes, 7 pacientes (35%), em três momentos distintos: triagem, sexta semana de tratamento e na coleta de controle. Comparando-se as três primeiras semanas de radioterapia com as três últimas semanas, não houve diferenças estatísticas entre as frequências de excreção de HHV-7. Também não houve diferenças entre a frequência de excreção de HHV-7 na sexta semana em comparação com os demais períodos.

O HHV-6 teve sua excreção observada em apenas 2 pacientes (10%), porém essa excreção ocorreu em vários momentos: na segunda, terceira, quinta, sexta semana de tratamento e na coleta de controle de 1 mês pós radioterapia. Na comparação entre os períodos, não houve diferenças significativas quanto à frequência de excreção do HHV-6.

Em relação à excreção do HSV1, a sua excreção foi observada em um maior número de pacientes na segunda e terceira semana de tratamento radioterápico, onde 3 pacientes (15%) excretaram o vírus. Na comparação entre as semanas de radioterapia e o período de Triagem com o Controle, não houve diferenças significativas quanto à frequência de excreção do HSV1.

A excreção negativa para herpesvirus foi observada em todas as semanas do tratamento, porém no momento da triagem, foi observado seu maior número, em 7 pacientes (35%). Houve diferenças significantes entre a frequência de casos negativos no momento da Triagem e no período de Controle, quando se notou drástica redução do número de casos negativos (5,5%; Teste Exato de Fisher, p=0.043). (Gráfico 5.12)

Tabela 5.6 - Herpesvirus X Semana de tratamento radioterápico

	Triagem* n (%)	1 RT*	2 RT*	3 RT*	4 RT*	5 RT *	6 RT*	Controle**
VIRUS								
EBV	11	14	17	16	15	16	16	16
HSV1	0	1	3	3	1	1	1	2
HHV-6	1	1	2	2	1	2	2	2
HHV-7	7	6	5	3	4	6	7	7
Neg	7	4	2	3	4	3	3	3

RT = Radioterapia / \*n=20 / \*\*n=18

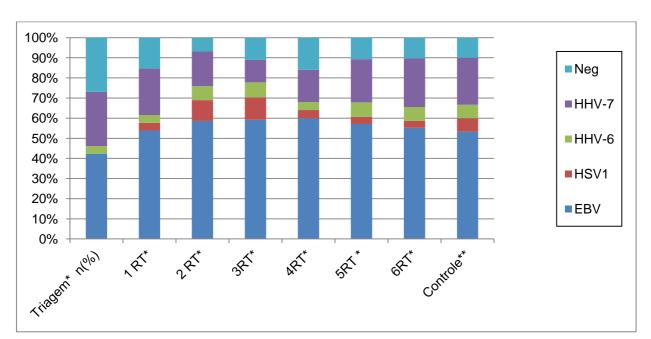


Gráfico 5.12 - Excreção herpesvirus e semanas de tratamento radioterápico

Todos os dados coletados estão apresentados em forma de tabela, no Apêndice C.

#### 5.5.2 Herpesvirus x mucosite oral e xerostomia

Foi realizada análise de correlação entre mucosite, xerostomia e frequência de excreção dos diferentes vírus.

Com relação ao EBV, não foi observada correlação significativa entre excreção desse vírus e presença de mucosite oral durante as semanas de radioterapia. Contudo, ao se considerar a severidade da mucosite incluindo-se em conjunto todas as semanas analisadas, foi observada correlação positiva significativa, ainda que fraca, entre excreção desse vírus e a presença de mucosite com grau ≥2 (Teste de correlação de Spearman, r=0.210, p=0.020). O Gráfico 5.13 evidencia que boa parte dos pacientes que foram positivos para EBV durante as semanas de radioterapia exibiram mucosite grau 2. Vale acrescentar que foram poucos aqueles EBV positivos que manifestaram graus mais severos de mucosite.

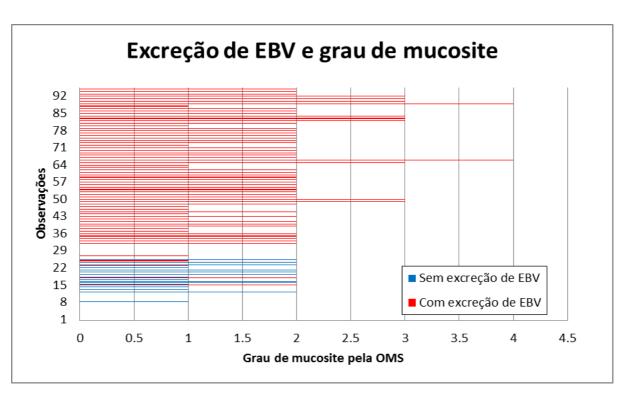


Gráfico 5.13 - Frequência de presença ou não de excreção de EBV em função do grau de mucosite oral

Analisando-se agora somente as três últimas semanas de radioterapia, nas quais a severidade de mucosite foi estatisticamente maior, também houve correlação positiva bem significativa entre excreção de EBV e mucosite com grau ≥2 (Teste de correlação de Spearman, r=0.335, p=0.008). Já, quando foram analisadas as três primeiras semanas de tratamento, a correlação entre ambas as variáveis não foi significante

Com relação à xerostomia, não foi detectada correlação significativa entre frequência dessa alteração e excreção pelo EBV, nem tampouco quando foram considerados os graus mais severos de xerostomia (graus ≥2). O Gráfico 5.14 mostra a relação da frequência de xerostomia com a excreção de EBV. Nota-se que, na grande maioria das situações, os pacientes com e sem excreção de EBV exibiam xerostomia grau 1; provavelmente o número de pacientes com xerostomia de grau ≥2 não foi suficiente para caracterizar uma correlação com a excreção do EBV.

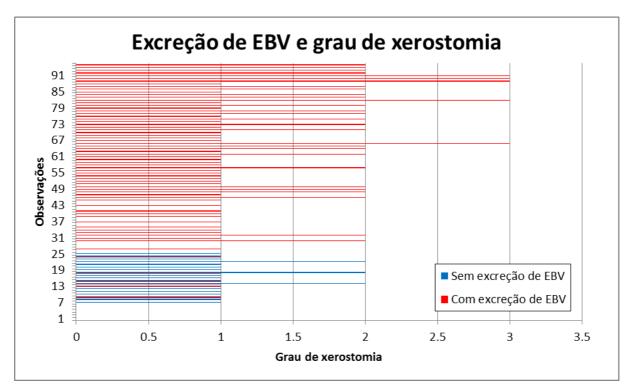


Gráfico 5.14 - Frequência de presença ou não de excreção de EBV em função do grau de xerostomia

Para o HHV-7, não houve correlação significativa entre a excreção desse vírus e a presença de mucosite, nem tampouco quando se consideraram os graus mais severos desta. Analisando-se somente as três últimas semanas de radioterapia, também não foi detectada correlação significativa entre essas duas variáveis. O Gráfico 5.15 mostra a relação da frequência de mucosite com a excreção de HHV-7. Nota-se que, na maioria das observações (coletas), a excreção do vírus foi negativa, bem como há uma distribuição semelhante dos graus de mucosite e a presença ou não de excreção viral.

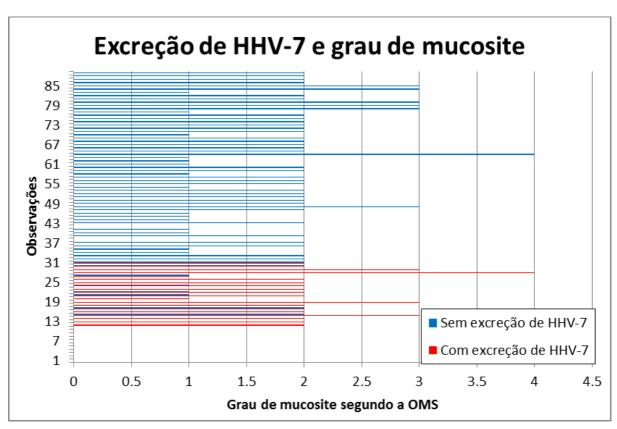


Gráfico 5.15 - Frequência de presença ou não de excreção de HHV-7 em função do grau de mucosite oral

Na análise de associação entre excreção de HHV-7 e presença/grau de xerostomia não houve correlação significativa. O Gráfico 5.16 mostra a relação da frequência de xerostomia com a excreção de HHV-7. Tal qual aconteceu com a mucosite, o baixo número de observações em que o HHV-7 foi excretado, associado à certa variação no grau de xerostomia, presente nesses casos, provavelmente não permitiu constatar correlação entre essas duas variáveis.

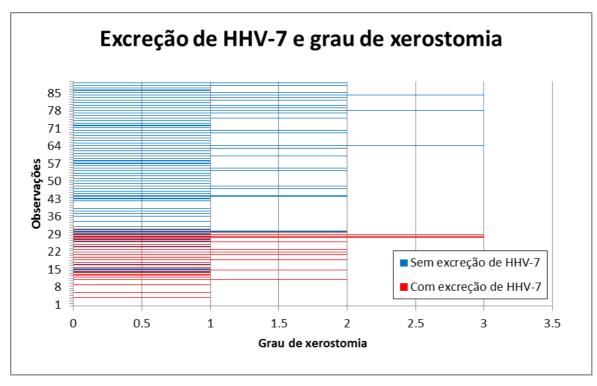


Gráfico 5.16 - Frequência de presença ou não de excreção de HHV-7 em função do grau de xerostomia

Para o HSV1, também não foi observada correlação significativa entre excreção desse vírus e presença/grau de mucosite oral, nem para presença/grau de xerostomia. O Gráfico 5.17 mostra a relação da frequência de mucosite com a excreção de HSV1. O baixo número de casos positivos não permitiu estabelecer associações com o grau de mucosite.

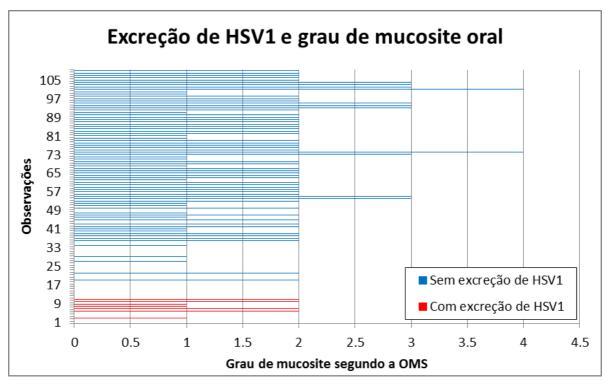


Gráfico 5.17 - Frequência de presença ou não de excreção de HSV1 em função do grau de mucosite oral

O Gráfico 5.18 evidencia a relação da excreção de HSV1 e o grau de xerostomia. Nota-se que o baixo número de casos positivos para HSV1 exibiram, na sua maioria, graus 0 e 1 de xerostomia.

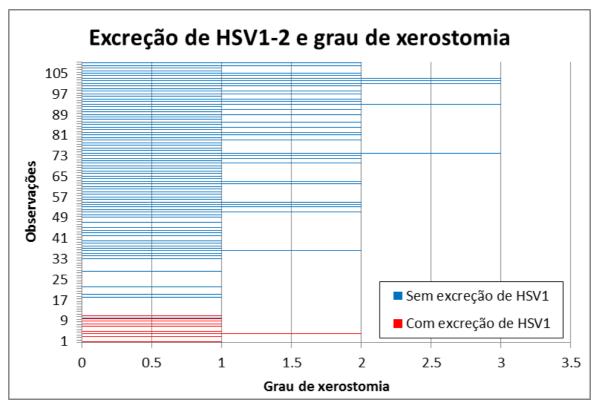


Gráfico 5.18 - Frequência de presença ou não de excreção de HSV1 em função do grau de xerostomia

Quanto ao HHV-6, também não foi observada correlação significativa, nem com mucosite nem com xerostomia. O Gráfico 5.19 mostra a relação das situações positivas ou não para esse vírus e o grau de mucosite. Provavelmente o baixo número de casos positivos para HHV-6 não permitiu a correlação com a mucosite. O mesmo pode ser dito para a xerostomia (Gráfico 5.20).

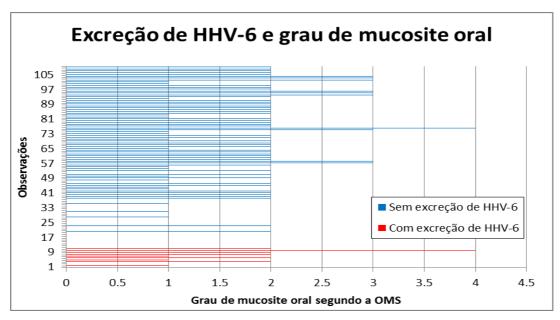


Gráfico 5.19 - Frequência de presença ou não de excreção de HHV-6 em função do grau de mucosite oral

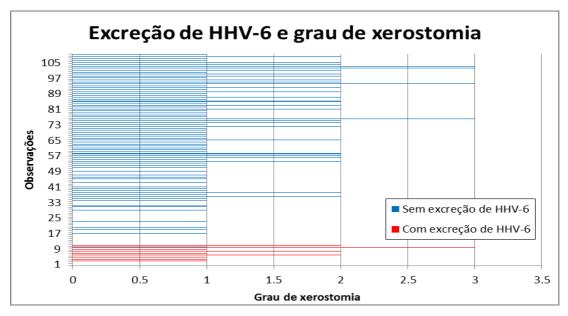


Gráfico 5.20 - Frequência de presença ou não de excreção de HHV-6 em função do grau de xerostomia

Também não foi possível detectar correlação entre ausência de positividade para qualquer vírus e frequência/graus de mucosite e xerostomia. O Gráfico 5.21 evidencia a relação entre os casos positivos e negativos para os vírus analisados e o grau de mucosite oral. Notam-se poucos casos negativos, os quais tiveram como grau máximo de mucosite o grau 2.

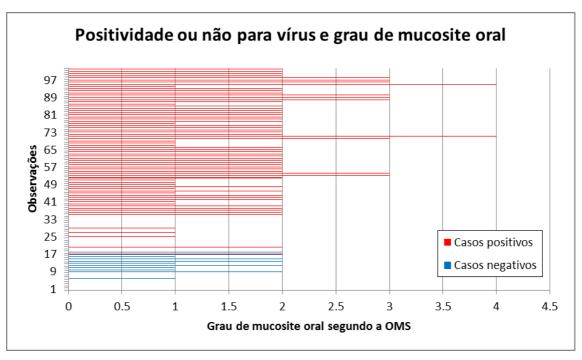


Gráfico 5.21 - Frequência de presença ou não positividade viral em função do grau de mucosite oral

O Gráfico 5.22 mostra a relação de presença ou ausência de positividade viral e grau de xerostomia. Tal qual observado para a mucosite, os poucos casos negativos tiveram severidade reduzida de xerostomia em relação aos casos positivos.

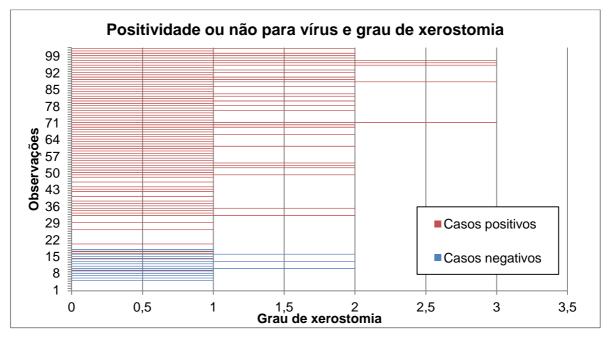


Gráfico 5.22 - Frequência de presença ou não positividade viral em função do grau de mucosite oral

Foi testada também a hipótese de haver correlação positiva entre presença de co-infecção viral e presença/grau de mucosite oral e de xerostomia. Também não foi encontrada correlação significativa para nenhuma das variáveis estudadas. O Gráfico 5.23 mostra a relação entre co-infecção e grau de mucosite oral. Há uma tendência de, tanto a presença, quanto a ausência de co-infecção, exibirem um padrão semelhante quanto aos graus de mucosite.

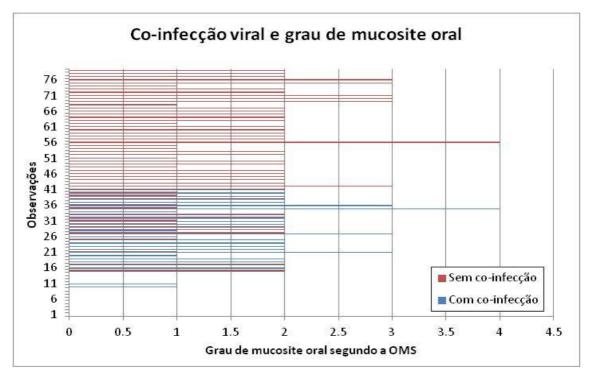


Gráfico 5.23 - Frequência de presença ou não de co-infecção em função do grau de mucosite oral

A mesma tendência foi observada para os graus de xerostomia, conforme demonstra o Gráfico 5.24.

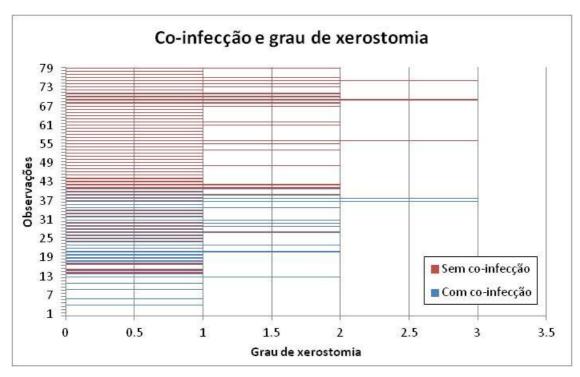


Gráfico 5.24 - Frequência de presença ou não de co-infecção em função do grau de xerostomia

# 6 DISCUSSÃO

A radioterapia usada a para o tratamento do carcinoma epidermoide de cabeça e pescoço é amplamente conhecida, assim como são conhecidas as suas complicações orais. Os pacientes submetidos a tratamento radioterápico podem desenvolver durante o tratamento: disfagia, xerostomia, disgeusia, mucosite e infecções (fúngicas e virais) (Andrews; Griffths, 2001; Sonis et al., 2004; Scully et al., 2004; Lalla et al., 2008; Mosel et al., 2011).

Muitos estudos relatam as diferentes complicações orais decorrentes da radioterapia. Entre eles, a revisão sistemática de Trotti et al. (2003), mostra que a Disfagia, em algum grau, foi observada em 56% dos pacientes, enquanto a disfagia grau 3, em que os pacientes faziam uso de sonda naso-enteral, foi observada em 19% dos pacientes. No nosso estudo, embora com um número menor de pacientes, 100% desenvolveram algum grau de disfagia, e 35% apresentaram grau 3, com uso de sonda naso-enteral.

Juntamente com a disfagia, outra complicação frequentemente relatada é a xerostomia. Segundo estudos de Trotti et al. (2003) e de Mosel et al. (2011), a sensação de "boca seca" costuma ser observada na terceira ou quarta sessão de radioterapia, devido a menor secreção de saliva pelas glândulas envolvidas no campo de radiação. Em nosso estudo, observamos os primeiros relatos de xerostomia na primeira semana de radioterapia, com 3 pacientes (15%), apresentando grau 1. Os autores também relatam que a xerostomia pode ser transitória ou permanente, dependendo do campo irradiado. Apesar do curto período de controle após a radioterapia, em nosso estudo, 100% dos pacientes ainda apresentavam algum grau de xerostomia, na avaliação realizada 1 mês após o término do tratamento radioterápico. Em nossos achados, todos os pacientes apresentaram algum grau de xerostomia a partir da quarta semana de tratamento radioterápico, o que persistiu até a consulta de acompanhamento 30 dias após o final das sessões, mostrando assim, um possível dano ao parênquima das glândulas salivares.

Em relação à outra complicação oral, a disgeusia, Mosel et al. (2011), relatou que ela ocorre devido a injuria do epitélio oral e das papilas gustativas, pela radioterapia ou quimioterapia. Geralmente, ela costuma ser relatada pelos pacientes

na segunda semana de tratamento radioterápico, juntamente com a observação clínica do início da mucosite. O nosso trabalho apresenta resultados semelhantes ao de Mosel et al. (2011) pois foi na segunda semana de tratamento radioterápico, em que a disgeusia começou a ser observada, com 8 pacientes (40%) relatando grau 1.

De todas as complicações orais decorrentes da radioterapia, a que apresenta maior destaque é a mucosite, principalmente devido à evolução clínica dos pacientes nos casos mais graves (Andrews; Griffths, 2001; Trotti et al., 2003; Sonis et al., 2004; Scully et al., 2004). A mucosite é uma reação tóxica inflamatória da mucosa oral causada pelo tratamento citorredutivo induzido pela radioterapia ou pela quimioterapia (Lalla et al., 2008; Chen et al., 2011; Gouveia de Lima et al., 2012). Em uma revisão sistemática realizada por Trotti et al. (2003), verificou-se que a maior prevalência de mucosite (43%) ocorreu em pacientes que foram tratados com radioterapia associada à quimioterapia, em comparação com pacientes tratados só com radioterapia (34%) ou só com quimioterapia (22%).

Segundo Redding et al. (1990), a mucosite começa a manifestar-se, geralmente na segunda semana de tratamento radioterápico, fato que também foi observado no nosso trabalho, com 4 pacientes (20%) apresentando grau 1 e 2 pacientes (10%) apresentaram grau 2 de mucosite. Muitos autores relataram a evolução da mucosite ao longo do tratamento radioterápico, podendo atingir graus mais altos nas últimas semanas do tratamento (Trotti et al., 2003; Lalla et al., 2008; Mosel et al., 2011). Dados estes, também observado em nosso estudo, em que verificamos os primeiros pacientes com grau 3 de mucosite (OMS) na quarta semana de tratamento, e dois deles evoluindo para grau 4, na quinta e sexta semana de tratamento.

Em estudo realizado por Trotti et al. (2003), 75% dos casos de mucosite grau 3-4 levaram a interrupção do tratamento antineoplásico e 16% levaram a hospitalização. O acompanhamento de nossos pacientes mostrou que o pico de incidência de mucosite grau 3 ocorreu na última semana de tratamento radioterápico (40%) e tivemos apenas um caso de mucosite grau 4 (5%) nas duas últimas semanas de tratamento. Vale salientar que no grupo acompanhado, não houve interrupção ao tratamento antineoplásico decorrente de mucosite. O controle de mucosite em graus toleráveis se deve ao preparo odontológico pré-radioterapia e também ao acompanhamento durante todo o tratamento com aplicações diárias de

laser de baixa intensidade, mostrando assim a eficácia do protocolo proposto pelo serviço (Zanin et al., 2010; Carvalho et al., 2011).

Alguns autores afirmam que infecções bacterianas, fúngicas ou virais podem acometer a mucosa bucal irradiada e exacerbar a manifestação da mucosite oral por meio da ativação de fatores de transcrição da resposta inflamatória (Melkos et al., 2003; Lalla et al., 2008; Zanin et al., 2010).

É bem estabelecida na literatura a correlação entre a excreção salivar do vírus herpes simples (HSV-1) e o desenvolvimento de mucosite oral severa em pacientes imunodeprimidos por meio de quimioterapia para tratamento de neoplasias malignas (Oakley et al., 1997; Sonis, 2002; Chen et al., 2011; Rüpping et al., 2011; Van der Beek et al., 2012). Assim como, também é conhecida, a relação entre a excreção salivar de HSV-1 e o surgimento de mucosite oral severa (graus II, III, IV, segundo a OMS) em pacientes imunodeprimidos devido ao tratamento quimioterápico para transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) (Rüpping et al., 2011; Van Der Beek et al., 2012).

Em relação aos outros membros da família do *Herpesviridae*, como o vírus Epstein-Barr (EBV), um estudo de Ambinder et al. (1985), observou que, pacientes imunodeprimidos devido ao tratamento quimioterápico, apresentaram 19-25% das amostras de saliva positivas para o EBV. E outro estudo, de van der Beek et al. (2012), observou-se que 98% dos pacientes imunodeprimidos devido ao tratamento quimioterápico para TCTH, apresentaram amostras positivas de EBV na cavidade oral. No entanto, apesar da excreção positiva do EBV na cavidade oral, a correlação com o desenvolvimento de mucosite oral ou de mucosite oral severa (graus II, III, IV, segundo a OMS) ainda não foi bem estabelecida.

A associação dos herpesvirus humanos em mucosite induzida por radioterapia de cabeça e pescoço é um assunto pouco explorado na literatura, com resultados por vezes conflitantes, e os estudos baseiam-se na busca de apenas HSV-1 (Nicolatou-Galitis et al., 2001; Nicolatou-Galitis et al., 2006; Correia et al., 2015).

Uma grande dificuldade na comparação de estudos em mucosite oral induzida por radioterapia de cabeça e pescoço e sua possível associação com o HSV-1 é a falta de padronização da amostra, quer seja na inclusão de pacientes com diferentes tipos de tumor, diferentes esquemas de radioterapia e/ou

quimioterapia, coletas de saliva realizadas em momentos únicos na maioria das vezes e falta de dados sorológicos (Nicolatou-Galitis et al., 2001; Nicolatou-Galitis et al., 2006; Correia et al., 2015). No presente estudo, todos os pacientes incluídos na amostra foram diagnosticados com carcinoma epidermoide (boca ou orofaringe), como proposta de tratamento foram submetidos à radioterapia, com dose total de 60 Gy, associado à quimioterapia (cisplatina 100mg/m2), preparo odontológico prévio e laserterapia. Um diferencial bastante importante de nosso trabalho foi a realização de coletas semanais durante todo o período de radioterapia, permitindo assim traçar um perfil da excreção salivar dos diferentes herpesvirus no decorrer do tempo. Esses fatores contribuíram para uniformização da amostra, porém reduziram o número de pacientes em que conseguimos realizar todas as coletas.

Poucos trabalhos buscaram a correlação da excreção de HSV-1 com mucosite oral induzida por radioterapia em associação ou não à quimioterapia. Nicolatou-Galitis et al., em 2001, avaliaram a presença de amostras positivas para HSV-1 no descamado bucal de pacientes submetidos a tratamento radioterápico, associada à quimioterapia, em região de cabeça e pescoço. Os autores encontraram amostras positivas para o HSV-1 no descamado bucal em 5 indivíduos de um total de 14 pacientes irradiados para tratamento de diferentes neoplasias em região de cabeça e pescoço (Nicolatou-Galitis et al., 2001). Os mesmos autores, em 2006, apresentaram os resultados de uma coorte mostrando que a infecção por HSV-1 agravou o grau de mucosite em 29,1% dos pacientes irradiados para diferentes tipos de tumores em na região de cabeça e pescoço (Nicolatou-Galitis et al., 2006).

Nossos resultados mostraram que 5 pacientes (20%) apresentaram alguma amostra positiva para o HSV-1 durante as semanas de tratamento radioterápico, e dois pacientes (10%), apenas no momento controle pós 30 dias do final do tratamento, com uma taxa de excreção de 35%. Do total de vinte pacientes acompanhados, nenhum apresentou amostra positiva para o HSV-1 antes do início do tratamento radioterápico. Porém não houve nenhuma correlação da excreção do HSV-1 com o surgimento ou agravamento da mucosite oral. Não foi observada também correlação aos tempos de radioterapia. Uma possível hipótese para essa falta de correlação com os graus de mucosite seria o número bastante reduzido de graus 3 e 4 apresentados em nossos pacientes. Também podemos levantar a possibilidade do controle da excreção oral do HSV-1 pela aplicação do laser de baixa intensidade. O uso dessa terapia tem se mostrado eficiente no controle de

infecções ativas de herpes labial, bem como no controle da reativação viral do HSV-1, prevenindo suas recorrências (Carvalho et al., 2010; Bello-Silva et al., 2010; Eduardo et al., 2012; Muñoz-Sanchez et al., 2012; de Paula Eduardo et al., 2014; Dougal; Lee, 2013; Stona et al., 2014).

Em nossos achados, não pudemos observar nenhum caso de reativação de HSV-1 constatado por meio de sorologia, sendo que apenas um indivíduo mostrou positividade para IgM (contato recente ou reativação), o que se manteve na sorologia controle. Todos os pacientes foram positivos para IgG HSV-1 nos dois momentos analisados. Um trabalho recente de Correia et al. (2015), mostrou através de sorologia, que a reativação do vírus é infrequente em pacientes sob tratamento radioterápico. Os autores também não encontraram nenhuma correlação dessas poucas reativações com graus mais severos de mucosite.

Avaliando os herpesvirus HHV-6 e HHV-7, estudo mostra que eles podem ser detectados em indivíduos saudáveis (Biganzoli et al., 2010). O HHV-6 é o agente etiológico do exantema súbito, enquanto a infecção por HHV-7 é geralmente assintomática (Ward et al., 2005; Pinheiro et al., 2013). A taxa de excreção oral do HHV-6 na população geral é baixa, girando em torno de 10% (Biganzoli et al., 2010; Magalhães et al., 2010). As taxas de excreção oral de HHV-7 são bastante diferentes, variando de 12.6% (Magalhães et al., 2010) a 90% (Biganzoli et al., 2010) dependendo da população estudada. Apesar de observados em indivíduos imunocompetentes, o HHV-6 e HHV-7 também são comumente encontrados em pacientes imunocomprometidos. Segundo estudo de Pinheiro et al. (2013) com crianças HIV positivas, após a análise do descamado bucal, 68% dos indivíduos apresentavam HHV-6 e 18% apresentavam HHV-7 na cavidade oral. Em outro estudo de Yamamoto et al. (2014), foi também observada, a alta incidência de HHV-6 na saliva de pacientes com doenças renais. Em nossa amostra, o HHV-7 revelouse o segundo vírus com maior frequência de excreção oral, com 70% dos pacientes apresentando amostras positivas (p=0.001). O HHV-6 apresentou uma frequência de excreção de 15%, não mostrando diferença estatística em relação ao HSV-1. Os vírus HHV-6 e HHV-7 não mostraram correlação com os graus de mucosite ou com os tempos de radioterapia.

Ambinder et al. (1985) e Van der Beek et al. (2012), afirmaram respectivamente, que 19-25% e 98% dos pacientes imunodeprimidos devido à quimioterapia, apresentavam excreção positiva para o EBV na cavidade oral, porém

nenhuma correlação com o desenvolvimento de mucosite oral severa foi estabelecida (Ambinder et al., 1985; Van der Beek et al., 2012). Em nosso trabalho, o EBV foi o vírus que apresentou maior frequência de excreção durante o período analisado, com 90% dos pacientes apresentando alguma amostra positiva, com diferença estatisticamente significante se comparado a todos os outros vírus que mostraram excreção oral (p<0.001). É amplamente relatado na literatura, que os pacientes oncológicos apresentam algum grau de imunossupressão, esse fato pode explicar as maiores taxas de excreção do EBV, anteriormente observada em outros grupos de imunossuprimidos por diversas razões (Braz-Silva et al., 2006).

Pela primeira vez na literatura, demonstramos uma correlação positiva entre a excreção oral de EBV e a presença de mucosite oral induzida por radioterapia com graus ≥2 (Teste de correlação de Spearman, r=0.210, p=0.020), sobretudo se considerarmos apenas as três últimas semanas de radioterapia, em que a severidade da mucosite se mostrou estatisticamente maior (Teste de correlação de Spearman, r=0.335, p=0.008).

Uma das hipóteses para explicar essa correlação positiva é a presença de um ambiente inflamatório local favorável, proporcionado nas mucosites a partir de grau 2, que favoreceriam a excreção local do vírus. Hipótese esta, semelhante à relatada por Van der Beek et al. (2012), que sugeriu que a presença do EBV na saliva pode ser um preditor das úlceras observadas na cavidade oral de pacientes em tratamento quimioterápico para TCTH.

A expressão de citocinas pró-inflamatórias associadas ao desenvolvimento da mucosite oral, tais como fator de necrose tumoral alpha (TNFα), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 beta (IL-1β), estão associadas ao controle de replicação do EBV (Tsao et al., 2012). Trabalho recentemente publicado mostra a maior frequência de excreção oral do EBV em pacientes com síndrome de Behçet se comparado ao grupo controle de indivíduos de mucosa sadia (Seoudi et al., 2015). Interessante notar que o perfil de citocinas inflamatórias da síndrome é semelhante ao apresentado pela mucosite oral (Mohammed et al., 2012; Krause et al., 2015; Seoudi et al., 2015).

O microambiente da mucosa oral, em pacientes sob tratamento radioterápico e quimioterápico, passa por inúmeras alterações, sendo essas essenciais para a compreensão da exata patogênese da mucosite oral. O ambiente inflamatório e microbiológico, sobretudo o viral, estão intrinsecamente ligados, desempenhando

um papel fundamental nas alterações ocorridas na mucosa durante todo o tratamento. Estudos que possibilitem entender o papel dos diferentes atores no contexto da mucosite oral nos permitirá estabelecer melhores estratégias de prevenção e controle dessa importante complicação aguda decorrente do tratamento antineoplásico, oferecendo ao paciente melhor qualidade de vida.

# 7 CONCLUSÃO

Houve uma correlação positiva entre a excreção oral do EBV e a presença de mucosite induzida pela associação de radioterapia e quimioterapia com graus ≥2, sobretudo se considerarmos as três últimas semanas de radioterapia, período este em que a severidade da mucosite foi estatisticamente maior. Esses achados nos possibilitam inferir que o ambiente inflamatório local de mucosites com grau ≥2 seja mais favorável para excreção oral do EBV.

# REFERÊNCIAS1

Aggarwall R, Bansal D, Naru J, Salaria M, Rana A, Minz RW, et al. HSV-1 as well as HSV-2 are frequent in oral mucosal lesions of children on Chemotherapy. Support Care Cancer. 2014 Jul;22(7):1773-9. doi: 10.1007/s00520-014-2152-0.

Ambinder RF, Wingard JR, Burns WH, Hayward SD, Saral R, Perry HR et al. Detection of Epstein-Barr virus DNA in mouthwashes by hybridization. J Clin Microbiol. 1985 Mar;21(3):353-6.

Andrews N, Griffiths C. Dental complications of head and neck radiotherapy: Part 1. Aust Dent J. 2001 Jun;46(2):88-94. Review.

Argiris A, Karamouzis MV, Raben D, Ferris RL. Head and neck cancer. Lancet. 2008 May;371(925):1695-709. doi: 10.1016/50140-6736(08)60728-x.

Bello-Silva MS, de Freitas PM, Aranha AC, Lage-Marques JL, Simões A, de Paula Eduardo C. Low- and high-intensity lasers in the treatment of herpes simplex virus 1 infection. Photomed Laser Surg. 2010 Feb;28(1):135-9. doi:101089/pho.2008.2458.

Bhide SA, Nutting CM. Advances in radiotherapy for head and neck cancer. Oral Oncol. 2010 Jun;46(6):439-41. doi: 10.1016/j.oraloncology.2010.03.005.

Bhide SA, Harrington KJ, Nutting CM. Otological toxicity after postoperative radiotherapy for parotid tumors. Clin Oncol (R Coll Radiol). 2007 Feb;19(1):77-82. Review.

Biganzoli P, Ferreyra L, Sicilia P, Carabajal C, Frattari S, Littvik A, et al. IgG subclasses and DNA detection of HHV-6 and HHV-7 in healthy individuals. J Med Virol. 2010 Oct;82(10):1679-83. doi: 10.1002/jmv.21.880.

Braz-Silva PH, Ortega KL, Rezende NP, Nunes FD, Magalhães MH. Detection of Epstein-Barr virus (EBV) in the oral mucosa of renal transplant patients. Diagn Cytopathol. 2006 Jan;34(1):24-8.

Bubley GJ, Chapman B, Chapman SK, Crumpacker CS, Schnipper LE. Effect of acyclovir on radiation and chemotherapy induced mouth lesions. Antimicrob Agents Chemother. 1989 Jun;33(6):862-5.

\_

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> De acordo com estilo Vancouver.

Camphausen K. Seminars in radiation oncology. Introduction. Semin Radiat Oncol. 2009 Jul; 19(3):141. doi: 10.1016/j.semradonc.2009.02.008.

Carvalho PA, Jaguar GC, Pellizzon AC, Prado JD, Lopes RN, Alves FA. Evaluation of low-level laser therapy in the prevention and treatment of radiation-induced mucositis: a double-blind randomized study in head and neck cancer patients. Oral Oncol. 2011 Dec;47(12):1176-81. doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.08.021.

Carvalho RR, de Paula Eduardo F, Ramalho KM, Antunes JL, Bezinelli LM, de Magalhães MH, et al. Effect of laser phototherapy on recurring herpes labialis prevention: an in vivo study. Lasers Med Sci. 2010 May;25(3):397-402. doi: 10.1007/s10103-009-0717-9.

Camphausen K., Seminars in Radiation Oncology. Semin Radiat Oncol. 2009 Jul; 19;141

Chen Y-K, Hou H-A, Chow J-M, Chen Y-C, Hsueh P-R, Tien H-F. The impact of oral herpes simplex virus infection and candidiasis on chemotherapy-induced oral mucositis among patients with hematological malignancies. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011 Jun;30(6):753-9. doi: 10,1007/s10096-010-1148-z.

Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, Lee F, Culpepper J, Knowles DM, et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. Science. 1994 Dec;266(5192):1865-9.

Cognetti DM, Weber RS, Lai SY. Head and neck cancer: an evolving treatment paradigm. Cancer. 2008 Oct;113(7 Suppl):1911-32. doi: 10.1002/cncr.23654.

Correia AVL, Coelho MRCD, de Oliveira Mendes Cahú GG, Almeida Silva JL, da Mota Vasconcelos Brasil C, de Castro JFL. Seroprevalence of HSV1-2 and correlation with aggravation of oral mucositis in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck region submitted to antineoplasic treatment. Support Care Cancer. 2015 Jul;23(7): 2105-11. doi: 10.1007/s00520-014-2558-8.

de Paula Eduardo C, Aranha AC, Simões A, Bello-Silva MS, Ramalho KM, Esteves-Oliveira M, et al. Laser treatment of recurrent herpeslabialis: a literature review. Lasers Med Sci. 2014 Jul; 29(4):1517-29. doi: 10.1007/s10103-01301311.

Dougal G, Lee SY. Evaluation of the efficacy of low-level light therapy using 1072 nm infrared light for the treatment of herpes simplex labialis. Clin Exp Dermatol. 2003 Oct;38(7):713-8. doi: 10.1111/ced.12069.

D'Souza G, Sugar E, Ruby W, Gravitt P, Gillison M. Analysis of the effect of DNA purification on detection of human papillomavirus in oral rinse samples by PCR. J Clin Microbiol. 2005 Nov; 43(11):5526-35.

Eduardo C de P, Bezinelli LM, Eduardo Fde P, da Graça Lopes RM, Ramalho KM, Bello-Silva MS, et al. Prevention of recurrent herpes labialis outbreaks through low-intensity laser therapy: a clinical protocol with 3-year follow-up. Lasers Med Sci. 2012 Sep;27(5):1077-83. doi: 10.1007/s10103-611-1019-6.

Elad S, Zadik Y, Hewson I, Hovan A, Correa ME, Logan R, et al. A systematic review of viral infections associated with oral involvement in cancer patients: a spotlight on Herpesviridae. Support Care Cancer. 2010 Aug;18(8):993-1006. doi: 10.1007/s00520-010-0900.

Epstein JB, Gorsky M, Hancock P, Peters N, Sherlock CH. The prevalence of herpes simplex virus shedding and infection in the oral cavity of seropositive patients undergoing head and neck radiation therapy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002 Dec; 94(6):712-6.

Fang FM, Chien CY, Tsai WL, Chen HC, Hsu HC, Lui CC, et al. Quality of life and survival outcome for patients with nasopharyngeal carcinoma receiving three-dimensional conformal radiotherapy vs. intensity-modulated radiotherapy-a longitudinal study. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008 Oct; 72(2):356-64. doi: 10.1016/j.ijrobp.2007.12.054.

Fatahzadeh M, Schlecht NF, Chen Z, Bottalico D, McKinney S, Ostoloza J, Dunne A, Burk RD. Oral human papillomavirus detection in older adults who have human immunodeficiency virus infection. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013 Abr;115(4):505-14. doi: 10.1016/joooos.2012.11.004.

Glenny AM, Fernandez Mauleffinch LM, Pavitt S, Walsh T. Interventions for the prevention and treatment of herpes simplex virus in patients being treated for cancer. Cochrane Database Syst Rev. 2009;21:CD006706. doi: 10.1002/14651858.CD006706.pub2.

Gouveia de Lima A, Villar RC, de Castro G Jr, Antequera R, Gil E, Rosalmeida MC, Federico MHH, Snitcovsky IML; Oral Mucositis Prevention by Low-Laser Therapy in Head and Neck Cancer Patients Undergoing Concurrent Chemoradiotherapy: A

phase III Randomized Study, Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2012 Jan;82(1):270-5. doi: 10.1016/j/ijrobp.2010.10.012.

Graber JJ, Rosenblum MK, DeAngelis LM. Herpes simplex encephalitis in patients with cancer. J Neurooncol. 2011 Nov;105(2):415-21. doi: 10.1007/s11060-011-0609-2.

Halperin EC, Perez CA, Brady LW, editors. Perez and Brady's. Principles and practice of radiation oncology. Philadelphia: Lippincott Willians & Wilkins; 2004. The Discipline of radiation oncology; 4,6,10.

Heath EM, Morken NW, Campbell KA, Tkach D, Boyd EA, Strom DA. Use of buccal cells collected in mouthwash as a source of DNA for clinical testing. Arch Pathol Lab Med. 2001 Jan; 125(1):127-33.

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) Editor. Coordenação de prevenção e vigilância. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. 1a ed. Rio de Janeiro: INCA; 2015. p. 56.

Jensen AB, Hansen O, Jorgensen K, Bastholt L. Influence of late side-effects upon daily life after radiotherapy for laryngeal and pharyngeal cancer. Acta Oncol. 1994;33(5):487–91.

Johansson J, Blomquist E, Montelius A, Isacsson U, Glimelius B. Potential outcomes of modalities and techniques in radiotherapy for patients with hypopharyngeal carcinoma. Radiother Oncol. 2004 Aug;72(2):129-38.

Johnson G, Nelson S, Petric M, Tellier R. Comprehensive PCR-based assay for detection and species identification of human herpesviruses. J Clin Microbiol. 2000 Sep;38(9):3274-9.

Krause CE, Otieno BA, Bishop GW, Phadke G, Choquette L, Lalla RV, et al. Ultrasensitive microfluidic array for serum pro-inflammatory cytokines and C-reactive protein to assess oral mucositis risk in cancer patients. Anal Bioanal Chem. 2015 Sep; 407(23):7239-43. doi: 10.1007/s00216-015-8873-1.

Lalla RV, Sonis ST, Peterson DE. Management of oral mucositis in patients with cancer. Dent Clin North Am. 2008 Jan;52(1):1-17, viii.

Lopes LF, Mendes WF. Leucemias na infância. In: Camargo B, Lopes LF. Pediatria oncológica: noções fundamentais para o pediatra. 1a ed. São Paulo: Lemar; 2000. Capitulo 7, p.109-18.

Magalhães IM, Martins RV, Cossatis JJ, Cavaliere RM, Afonso LA, Moysés N, et al. Detection of human herpesvirus 6 and 7 DNA in saliva from healthy adults from Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2010 Nov;105(7):925-7.

Melkos AB, Massenkeil G, Arnold R, Reichart PA. Dental treatment prior to stem cell transplantation and its influence on the post transplantation outcome. Clin Oral Investig. 2003 Jun;7(2):113-5. Epub 2003 May 4.

Mohammed FF, Poon I, Zhang L, Elliott L, Hodson ID, Sagar SM, et al. Acute-phase response reactants as objective bio- markers of radiation-induced mucositis in head and neck cancer. Head Neck. 2012 Jul;34(7):985–93. doi: 10,1002/hen.21848.

Mosel DD, Bauer RL, Lynch DP, Hwang ST. Oral Complications in treatment of cancer patients. Oral Diseases. 2011 Sep;17(6): 550-9. doi: 10.1111/j.1001-0825.20011.01788.x.

Muñoz Sanchez PJ, Capote Femenías JL, Díaz Tejeda A, Tunér J. The effect of 670-nm low laser therapy on herpes simplex type 1. Photomed Laser Surg. 2012 Jan;30(1):37-40. doi: 10.1089/pho.2011.3076.

Nicolatou-Galitis O, Athanassiadou P, Kouloulias V, Sotiropoulou-Lontou A, Dardoufas K, Polychronopoulou A, et al. Herpes simplex virus-1 (HSV-1) infection in radiation-induced oral mucositis. Support Care Cancer. 2006 Jul;14(7):753-62.

Nicolatou-Galitis O, Dardoufas K, Markoulatos P, Sotiropoulou-Lontou A, Kyprianou K, Kolitsi G, et al. Oral pseudomembranous candidiasis, herpes simplex virus-1 infection, and oral mucositis in head and neck cancer patients receiving radiotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) mouthwash. J Oral Pathol Med. 2001 Sep;30(8):471-80.

Oakley C, Epstein JB, Sherlock CH. Reactivation of oral herpes simplex virus. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1997 Sep;84(3):272-8. Review.

Parvathaneni U, Laramore GE, Liao JJ. Technical advances and pitfalls in head and neck radiotherapy. J Oncol. 2012;2012:597467. doi: 10.1155/2012/597467. Epub 2012 May 30.

Parulekar W, Mackenzie R, Bjarnason G, Jordan RC. Scoring oral mucositis. Oral Oncol. 1998 Jan;34(1):63-71.

Pinheiro R dos S, Ferreira D de C, Nóbrega F, Santos NS, Souza IP, Castro GF. Current status of herpesvirus identification in the oral cavity of HIV-infected children. Rev Soc Bras Med Trop. 2013 Jan-Feb;46(1):15-9.

Redding SW, Luce EB, Boren MW. Oral herpes simplex virus infection in patients receiving head and neck radiation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1990 May;69(5):578-80.

Roizman B. The family Herpesviridae. In: Whitley RJ, Lopez C, editors. The human herpesviruses. New York: Raven Press. 1993; p.1-9.

Rüping MJ, Keulertz C, Vehreschild JJ, Lövenich H, Söhngen D, Wieland U, Cornely OA. Association of HSV reactivation and pro-inflammatory cytokine levels with the severity of stomatitis after BEAM chemotherapy and autologous SCT. Support Care Cancer. 2011 Aug;19(8): 1211-6. doi: 10.1007/s00520-010-0940-8.

Scully C, Epstein J, Sonis S. Oral mucositis: a challenging complication of radiotherapy, chemotherapy, and radiochemotherapy. Part 2: Diagnosis and management of mucositis. Head Neck. 2004 Jan;26(1):77-84.

Seoudi N, Bergmeier LA, Hagi-Pavli E, Bibby D, Fortune F. The seroprevalence and salivary shedding of herpesviruses in Behçet's syndrome and recurrent aphthous stomatitis. J Oral Microbiol. 2015 Jun;5(7):27156. doi: 10.3402/jan.v7.27156.eCollection 2015.

Sonis ST. The biologic role for nuclear factor-kappaB in disease and its potential involvement in mucosal injury associated with anti-neoplasic therapy. Crit Rev Oral Biol Med. 2002;13(5):380–9.

Sonis ST, Elting LS, Keefe D, Peterson DE, Schubert M, Hauer-Jensen M, et al. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. Cancer. 2004 May;100(9 Suppl):1995-2025. Review.

Stona P, da Silva Viana E, Dos Santos Pires L, Blessmann Weber JB, Floriani Kramer P. Recurrent labial herpes simplex in pediatric dentistry: Low-level laser

therapy as a treatment option. Int J Clin Pediatr Dent. 2014 May;7(2):140-3. doi: 10.5005/jp-journals-10005-1252.

Tolentino ES, Centurion BS, Ferreira LHC, Souza AP, Damante JH, Rubira-Bullen IRF. Oral adverse effects of head and neck radiotherapy: literature review and suggestion of a clinical oral care guideline for irradiated patients. J. Appl. Oral Sci. 2011 Oct;19(5):448-54. Review.

Trotti A, Bellm LA, Epstein JB, Frame D, Fuchs HJ, Gwede CK, et al. Mucositis incidence, severity and associated outcomes in patients with head and neck cancer receiving radiotherapy with or without chemotherapy: a systematic literature review. Radiother Oncol. 2003 Mar;66(3):253–62. Review.

Tsao SW, Tsang CM, Pang PS, Zhang G, Chen H, Lo KW. The biology of EBV infection in human epithelial cells. Semin Cancer Biol. 2012 Apr;22(2):137–43. Review.

Van der Beek MT, Laheij AM, Raber-Durlacher JE, von dem Borne PA, Wolterbeek R, van der Blij-de Brouwer CS, et al. Viral loads and antiviral resistance of herpesviruses and oral ulcerations in hematopoietic stem cell transplant recipients. Bone Marrow Transplant. 2012 Sep;47(9):1222-8. doi: 10.1038/bmt.2012.2.

Wagner EK. The herpes simplex type 1 virus latency gene. In: Becker Y, Darai D, editors. Pathogenicity of human herpes viruses due to specific pathogenicity genes. Berlin: Springer-Verlag; 1994. p. 210-21.

Ward K. The natural history and laboratory diagnosis of human herpesviruses-6 and -7 infections in the immunocompetent. J Clin Virol. 2005 Mar;32(3):183–93. Review.

The World Health Organization Quality of Life Assessment (WHOQOL): position paper from the World Health Organization. Soc Sci Med. 1995 Nov;41(10):1403-9.

Yahav D, Gafter-Gvili A, Muchtar E, Skalsky K, Kariv G, Yeshurun M, Leibovici L, Paul M. Antiviral prophylaxis in hematological patients: systematic review and meta-analysis. Eur J Cancer. 2009 Dec;45(18):3131-48. doi: 10.1016/j.ejca.2009.08.010.

Yamamoto Y, Morooka M, Hashimoto S, Ihra M, Yoshikawa T. Analysis of the shedding of three β-herpesviruses in urine and saliva of children with renal disease. J Med Virol. 2014 Mar;86(3):505-11. doi: 10.1002/jmv.23782.

Zanin T, Zanin F, Carvalhosa AA, Castro PHS, Pachec MT, Zanin ICJ, et al. Use of 660-nm diode laser in prevention and treatment of human oral mucositis induced by radiotherapy and chemotherapy. Photomed Laser Surg. 2010 apr;28(2):233-37. doi: 10.1089/pho.2008.2242.

#### APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



## INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO

Octavio Frias de Oliveira

Secretaria de Estado da Saúde,

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

I. INOIVI∟					
DOCUMENTO DE IDENTIDADE	Ξ Nº :	SEXC	D: .M 🗆 F 🛭		
DATA NASCIMENTO:/	/				
ENDEREÇO					
BAIRRO:					
CEP:	TELEFONE: DDD	()			
2.RESPONSÁVEL LEGAL					
NATUREZA (grau de parentesc	o, tutor, curador etc	c.)			
DOCUMENTO DE IDENTIDADE	<u> </u>	SEXO: M 🗆	F□		
DATA NASCIMENTO.:/	./				
ENDEREÇO:		Nº	AP1	ГО:	
BAIRRO:		CIDADE:			
CEP:TELE	FONE: DDD (	)			
ΡΔΡ	OS SOBRE A	PESQUISA			
			~		
I. TÍTULO DO PROTOCOLO	DE PESQUISA	DETECÇ	AO DOS	VIRUS DA	A FAMILIA
<i>Herpesviridae</i> NA MU	JCOSA BUC	AL DE PA	CIENTES	IRRADIAD	OS PARA
-					
TRATAMENTO DE CAR					
-					
TRATAMENTO DE CAR	RCINOMA ESI	PINO CELUL			
TRATAMENTO DE CAR PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca	RCINOMA ESI	PINO CELUL	AR EM R	EGIÃO DE	CABEÇA E
TRATAMENTO DE CAR PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca CARGO/FUNÇÃO:	RCINOMA ESI	PINO CELUL IÇÃO CONSELHO	AR EM RI	EGIÃO DE	CABEÇA E
TRATAMENTO DE CAR PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca	RCINOMA ESI	PINO CELUL IÇÃO CONSELHO	AR EM RI	EGIÃO DE	CABEÇA E
TRATAMENTO DE CAR PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca CARGO/FUNÇÃO:	RCINOMA ESI	PINO CELUL IÇÃO CONSELHO	AR EM RI	EGIÃO DE	CABEÇA E
TRATAMENTO DE CAR PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca CARGO/FUNÇÃO:	a BrandãoINSCR	PINO CELUL IÇÃO CONSELHO	AR EM RI	EGIÃO DE	CABEÇA E
TRATAMENTO DE CAR PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca CARGO/FUNÇÃO:	a BrandãoINSCR	PINO CELUL IÇÃO CONSELHO	AR EM RI	EGIÃO DE	CABEÇA E
TRATAMENTO DE CAR PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca CARGO/FUNÇÃO:	RCINOMA ESI  BrandãoINSCRI gia	PINO CELUL	AR EM RI	EGIÃO DE	CABEÇA E
TRATAMENTO DE CAR PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca CARGO/FUNÇÃO:	a BrandãoINSCR	PINO CELUL IÇÃO CONSELHO	AR EM RI	EGIÃO DE	CABEÇA E
PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca CARGO/FUNÇÃO:  UNIDADE DO ICESP: Odontolo  3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PE	RCINOMA ESI  BrandãoINSCRI gia	PINO CELUL IÇÃO CONSELHO	REGIONAL N	EGIÃO DE	CABEÇA E
TRATAMENTO DE CAR PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca CARGO/FUNÇÃO:	RCINOMA ESI  BrandãoINSCRI gia	PINO CELUL	REGIONAL N	EGIÃO DE	CABEÇA E
PESCOÇO.  PESQUISADORThaís Bianca CARGO/FUNÇÃO:  UNIDADE DO ICESP: Odontolo  3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PE	BrandãoINSCRI	PINO CELUL IÇÃO CONSELHO RISCO MÉDIO RISCO MAIOR	REGIONAL N	EGIÃO DE	CABEÇA E

## INSTITUTO DO CANCER DO ESTADO DE SÃO PAULO



#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: **DETECÇÃO DOS VÍRUS DA FAMILIA Herpesviridae** NA MUCOSA BUCAL DE PACIENTES
IRRADIADOS PARA TRATAMENTO DE CARCINOMA ESPINO CELULAR EM REGIÃO
DE CABEÇA E PESCOÇO

O principal motivo que nos leva a realizar este estudo é pesquisar se a presença dos vírus da família do herpes na boca dos indivíduos irradiados em região de cabeça e pescoço está relacionada ao desenvolvimento ou ao agravamento da mucosite bucal.

Esta pesquisa se justifica pelas importantes sequelas associadas à radioterapia para tratamento do câncer em boca. O objetivo final é elaborar estratégias mais eficientes de prevenção, controle e preservação da saúde bucal para melhorar a qualidade de vida dos pacientes irradiados.

Para realizar este estudo serão coletadas amostras do **lavado bucal** ("bochecho") de pacientes sob tratamento radioterápico em região de cabeça e pescoço, uma vez por semana, durante todo o período de tratamento da radioterapia. Será realizado um exame de sua boca em todos os momentos da coleta do lavado bucal ("bochecho") e serão coletadas também, 3 amostras de sangue: antes, durante e depois do tratamento radioterápico.

# Os procedimentos de coleta das amostras serão realizados da seguinte forma:

- As amostras do lavado bucal ("bochecho") serão sempre coletadas antes ou após a sessão de radioterapia realizada no <u>Instituto do Câncer do Estado de São Paulo</u> – ICESP, Av. Dr. Arnaldo, 251 - Cerqueira César - São Paulo – SP, Brasil.
- Você será instruído a realizar um bochecho com 10 ml de água destilada, por 30 segundos, e depositar o líquido bochechado em um tubo coletor tipo Falcon® (50ml).
- Uma enfermeira realizará a coleta de dois tubos de sangue (5ml) sangue total e soro.

#### As amostras serão coletadas em 3 momentos:

- 1. Imediatamente antes do início da radioterapia.
- 2. Na última sessão de radioterapia.
- 3. Na sessão de controle de 30 dias após o término da radioterapia.

#### Avaliação da mucosite bucal:

 A avaliação da mucosite bucal será feita por meio de exame clínico semanal, durante todo o tratamento radioterápico.

#### **DESCONFORTOS E RISCOS E BENEFÍCIOS:**

Poderá ocorrer certo desconforto durante a coleta de material devido à grande sensibilidade da mucosa bucal em decorrência da radioterapia. Este desconforto é passageiro e cessa logo após o término do bochecho. Certo desconforto também é esperado durante a coleta de sangue, pelo uso de agulha e pela possibilidade de hematomas em alguns pacientes.

#### FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA:

Todos os pacientes que apresentarem quadro de mucosite bucal em qualquer grau poderão receber o tratamento para amenização dos efeitos colaterais da radioterapia, seguindo o protocolo de tratamento preconizado pelo serviço de Odontologia do <u>Instituto do Câncer do Estado de São Paulo</u> — ICESP. **Este protocolo, emprega a laser terapia de baixa potência, associado ao uso de saliva artificial e à administração de medicação analgésica e antiinflamatória.** 

## GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO:

Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

Os pesquisadores irão tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa serão enviados para você e permanecerão confidenciais. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

# CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS DANOS:

A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

IDENTIFICAÇÃO DO CHIEITO DA DECOLUÇA OU DECDONCÁVEL LECAL

NOME	O DA PESQUISA OU RESPONSAVEL LEGAL	
 RG:	CPF:	
	DATA NASCIMENTO: /	/
GÊNERO: Masculino ENDEREÇO	□ Feminino □	
TELEFONE: DDD ()	()CELULAR:	DDD

Data

## **DECLARAÇÃO DE PARTICIPAÇÃO:**

•
Eu, acredito ter
sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "DETECÇÃO DOS VÍRUS DA FAMILIA <i>Herpesviridae</i> NA MUCOSA BUCAL DE PACIENTES IRRADIADOS PARA TRATAMENTO DE CARCINOMA ESPINO
CELULAR EM REGIÃO DE CABEÇA E PESCOÇO". Eu discuti com a Dra Michelle Palmieri,
sobre a minha decisão em participar do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus
desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso
a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste
estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo,
sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.
Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e motivar minha
decisão se assim o desejar. Os pesquisadores certificaram-me de que todos os dados desta
pesquisa serão confidenciais. Em caso de dúvidas poderei chamar a aluna de pós-
graduação Dra. Michelle Palmieri ou seu orientador Prof. Dr. Paulo Henrique Braz da Silva, pelo telefone(11) 3091 7912, pelos endereços de e-mail: mipalm@usp.br ou
paulo fousp@yahoo.com.br.
Declaro que concordo em participar desse estudo e que recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido, juntamente com a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.
Data
Assinatura do Paciente ou representante legal
Data
Assinatura da Testemunha
(para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou
portadores de deficiência auditiva ou visual.)
(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste

Assinatura do Responsável pelo estudo

paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Pesquisador Responsável: Dra. Thaís Bianca Brandão

Serviço de Odontologia, ICESP -FMUSP

Instituto do Câncer do Estado de São Paulo

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Pesquisador Executante: Dra. Michelle Palmieri CROSP 81111

Mestrando em Patologia Bucal, Faculdade de Odontologia Universidade de São Paulo, São Paulo, SP - Brasil mipalm@usp.br (11) 981446616

ORIENTADOR: Prof. Dr. Paulo Henrique Braz da Silva CROSP 81124 Disciplina de Patologia Geral – Departamento de Estomatologia FOUSP

Laboratório de Virologia - Instituto de Medicina Tropical de São Paulo - IMTSP

Universidade de São Paulo, São Paulo, SP – Brasil paulo\_fousp@yahoo.com.br (11) 941774438

## APÊNDICE B - Controle de pacientes - ICESP

NOME :	IDADE	M 🗆 F 🗆
RGHC: TELE	EFONE:	
TIPO DE TUMOR:	LOCALIZAÇÃO:	
TRATAMENTO:N	o. De sessões de RT / Inicio:	
Coleta no.: $1$ (data:/) Ok $\square$	- Alimentação: Sólido □	Líquido □
LSR <b>TRIAGEM</b>	Sonda N E □ Motivo	
	Gastrostomia ☐ Motivo_	
MUCOSITE: OMS Grau/ NCIC Grau	Dor	
Eritema	Xerostomia	
Ulceras	- Gl. Salivar Drenando	
Disfagia	OBS:	
Disgeusia:		
- Alimentação: Sólido □ Líquido □		
Sonda N E   Motivo		
Gastrostomia   Motivo		
Dor	Coleta no.: $\bf 3$ (data:/_	/) Ok 🗆
Xerostomia	LSR (2ª.semar	na RT)
- Gl. Salivar Drenando		
OBS:	MUCOSITE: OMS Grau _	/ NCIC Grau
	Eritema	
	Ulceras	
	Disfagia	
	Disgeusia:	
Coleta no.: $2$ (data:/) Ok $\square$	- Alimentação: Sólido □	Líquido □
LS (1 <sup>a</sup> .semana RT)	Sonda N E ☐ Motivo	
	Gastrostomia ☐ Motivo_	
MUCOSITE: OMS Grau/ NCIC Grau	Dor	
Eritema	Xerostomia	
Ulceras	Gl. Salivar Drenando	
Disfagia	OBS:	
Disgeusia:		

	OBS:
Coleta no.: <b>4</b> (data:/) Ok	
LSR (3 <sup>a</sup> .semana RT)	Coleta no.: $6$ (data:/) Ok $\square$
	LSR (5 <sup>a</sup> .semana RT)
MUCOSITE: OMS Grau/ NCIC Grau	
Eritema	MUCOSITE: OMS Grau/ NCIC Grau_
Ulceras	Eritema
Disfagia	Ulceras
Disgeusia:	Disfagia
- Alimentação: Sólido $\square$ Líquido $\square$	Disgeusia:
Sonda N E   Motivo	- Alimentação: Sólido □ Líquido □
Gastrostomia   Motivo	Sonda N E   Motivo
Dor	Gastrostomia □ Motivo
Xerostomia	Dor
- Gl. Salivar Drenando	Xerostomia
OBS:	-Gl. Salivar Drenando
	OBS:
Coleta no.: <b>5</b> (data:/) Ok $\Box$	
LSR(4ª.semana RT)	Coleta no.: 7 (data:/) Ok $\Box$
	LSR (6 <sup>a</sup> .semana RT)
MUCOSITE: OMS Grau/ NCIC Grau	
Eritema	MUCOSITE: OMS Grau/ NCIC Grau
Ulceras	Eritema
Disfagia	Ulceras
Disgeusia:	Disfagia
- Alimentação: Sólido $\square$ Líquido $\square$	Disgeusia:
Sonda N E   Motivo	- Alimentação: Sólido 🗆 Líquido 🗆
Gastrostomia   Motivo	Sonda N E   Motivo
Dor	Gastrostomia   Motivo
Xerostomia	Dor
Gl. Salivar Drenando	Xerostomia
	- Gl. Salivar Drenando

OBS:	OBS:
	·
Coleta no.: <b>8</b> (data:/) Ok □	
LSR (7 <sup>a</sup> .semana RT)	
MUCOSITE: OMS Grau/ NCIC Grau	
Eritema	
Ulceras	
Disfagia	
Disgeusia:	
- Alimentação: Sólido $\square$ Líquido $\square$	
Sonda N E   Motivo	
Gastrostomia   Motivo	
Dor	
Xerostomia	
Gl. Salivar Drenando	
OBS:	
Coleta no.: 9 (data:/) Ok $\square$	
LSR ( <b>CONTROLE</b> - 30 dias)	
MUCOSITE: OMS Grau/ NCIC Grau	
Eritema	
Ulceras	
Disfagia	
Disgeusia:	
- Alimentação: Sólido $\square$ Líquido $\square$	
Sonda N E   Motivo	
Gastrostomia ☐ Motivo	
Dor	
Xerostomia	
Gl. Salivar Drenando	

APÊNDICE C – Tabela geral com dados dos pacientes

	MUCOSITE OMS, NCIC, DISFAGIA, XEROSTOMIA, DISGEUSIA, ENV e PCR																
	Sorol.	Inicial	Triagem							1a. RT							
	IgM	IgG	OMS	NCIC	Disf	Xer	Disg	ENV	PCR	OMS	NCIC	Disf	Xer	Disg	ENV	PCR	
1	neg	+	0	0	1	0	0	0	EBV	0	0	1	0	0	1	EBV	
2	HSV1-2	+	0	0	0	0	0	0	EBV / HHV-7	0	0	0	0	0	2	EBV / HHV-7	
3	neg	+	0	0	1	0	na	0	EBV / HHV-7 / HHV-6b	0	0	1	0	na	0	EBV	
4	neg	+	0	0	0	0	0	0	HHV-7	0	0	0	0	0	0	EBV	
5	neg	+	0	0	3	0	0	0	EBV	0	0	3	0	0	0	EBV / HHV-7	
6	neg	+	0	0	0	0	0	0	-	0	0	3	0	na	8	EBV	
7	neg	+	0	0	1	0	0	0	-	0	0	1	0	0	0	-	
8	neg	+	0	0	0	0	0	0	EBV / HHV-7	0	0	0	0	0	0	EBV	
9	CMV	+	0	0	3	0	na	0	EBV / HHV-7	0	0	3	0	na	0	EBV / HHV-7	
10	neg	+	0	0	1	0	0	0	EBV / HHV-7	0	0	0	1	0	0	EBV / HHV-7	
11	neg	+	0	0	3	0	na	0	EBV	0	0	3	0	na	5	EBV / HHV-6b	
12	neg	+	0	0	1	0	0	0	-	0	0	1	0	0	3	-	
13	neg	+	0	0	0	0	0	0	EBV	0	0	0	0	0	0	EBV	
14	neg	+	0	0	0	0	0	0	EBV	0	0	0	0	0	0	EBV	
15	neg	+	0	0	0	0	0	0	HHV-7	0	0	0	0	0	0	HHV-7	
16	neg	- cmv	0	0	0	0	0	0	EBV / HHV-7	0	0	0	0	0	3	-	
17	neg	+	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	-	
18	neg	+	0	0	0	0	0	0	-	0	0	1	1	0	1	EBV / HSV1 / HHV-7	
19	neg	+	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	HSV1	
20	neg	+	0	0	1	0	0	0	-	0	0	3	1	na	3	EBV	

										М	UCO:	SITE (	OMS,	NCIC, DISFAGIA, XEI	ROSTO	MIA,	ENV	e PC	CR		
					2	a. RT		3a. RT							4a. RT						
	OMS	NCIC	Disf	Xer	Disg	ENV	PCR	OMS	NCIC	Disf	Xer	Disg	ENV	PCR	OMS	NCIC	Disf	Xer	Disg	ENV	PCR
1	2	2	1	1	1	4	EBV	2	2	2	2	1	5	EBV	2	2	2	2	1	3	EBV
2	0	0	0	0	1	4	EBV / HHV-7	2	2	1	1	1	4	EBV / HHV-7	3	2	2	2	2	5	EBV / HHV-7
3	0	0	1	0	na	0	EBV	2	2	2	1	na	5	EBV	3	3	2	2	na	6	EBV
4	2	2	0	1	1	1	EBV	2	3	1	1	2	2	EBV	2	3	1	1	2	2	EBV
5	0	0	3	0	1	2	EBV / HHV-7	2	2	3	0	1	4	EBV / HSV1	2	2	3	1	na	6	EBV
6	0	0	3	0	na	7	EBV	1	1	3	1	na	7	EBV	2	2	3	1	na	7	EBV
7	0	0	1	0	1	0	EBV	1	1	1	0	1	0	EBV	2	2	2	1	2	5	EBV
8	0	0	1	0	1	0	EBV	2	2	2	1	1	0	EBV	2	2	2	1	2	2	EBV
9	1	1	3	0	na	1	EBV	2	2	3	1	na	3	EBV	2	2	3	1	na	4	EBV / HHV-7
10	0	0	1	1	0	0	EBV / HHV-7	0	0	1	1	0	0	-	1	1	1	2	0	1	-
11	1	1	3	0	na	8	EBV / HHV-6b	2	2	3	1	na	6	EBV / HHV-6b	2	2	3	2	na	5	EBV / HHV-6b
12	0	0	1	0	1	5	EBV	1	1	2	0	1	8	EBV	2	2	3	1	na	5	EBV
13	1	1	0	1	0	4	EBV / HSV1	2	2	1	1	1	8	EBV / HHV-7	2	3	1	1	1	9	EBV / HHV-7
14	0	0	0	0	0	0	EBV	1	1	0	0	1	1	EBV	2	2	1	1	2	2	EBV
15	0	0	0	0	0	0	EBV / HHV-7	2	2	1	1	0	2	EBV / HSV1 / HHV-7	2	3	1	1	1	4	EBV / HHV-7
16	0	0	0	1	0	3	-	0	0	0	1	0	3	-	1	1	1	1	0	4	-
17	1	1	0	1	1	0	-	2	2	0	1	1	3	-	2	2	0	1	1	4	-
18	0	0	1	2	0	3	EBV / HSV1 / HHV-7	1	1	1	2	0	3	EBV	2	3	2	2	1	6	EBV
19	0	0	1	1	0	0	HSV1	1	1	1	1	0	2	HSV1	1	1	1	1	0	4	HSV1
20	0	0	3	1	na	4	EBV / HHV-6b	1	1	3	1	na	5	EBV / HHV-6b	1	1	3	1	na	6	EBV / HHV-6b

## MUCOSITE OMS, NCIC, DISFAGIA, XEROSTOMIA, DISGEUSIA, ENV e PCR

	5a. RT						6a. RT								Sorologia Final	
	OMS	NCIC	Disf	Xer	Disg	ENV	PCR	OMS	NCIC	Disf	Xer	Disg	ENV	PCR	IgM	IgG
1	1	1	1	2	1	2	EBV	1	1	1	2	1	1	EBV	neg	+
2	3	3	2	2	2	6	EBV / HHV-7	2	2	2	1	2	7	EBV / HHV-7	HSV1- 2	+
3	4	4	3	3	na	7	EBV	3	3	3	3	na	5	EBV	neg	+
4	2	3	2	1	2	5	EBV	3	3	2	2	1	5	EBV	neg	+
5	2	3	3	1	na	7	EBV	3	3	3	2	na	8	EBV	neg	+
6	2	2	3	1	na	6	EBV	2	2	3	1	na	7	EBV	neg	+
7	2	2	2	1	2	2	EBV	2	2	2	2	2	3	EBV / HHV-7	neg	+
8	2	2	2	2	2	2	EBV	2	2	2	2	2	2	EBV	neg	+
9	1	1	3	1	na	3	EBV / HHV-7	1	1	3	1	na	1	EBV / HHV-7	CMV	+
10	1	1	1	2	1	1	-	1	1	1	2	1	1	-	neg	+
11	2	2	3	2	na	7	EBV / HHV-7 / HHV-6b	4	4	4	3	na	7	EBV / HHV-7 / HHV-6b	neg	+
12	2	2	3	1	na	5	EBV	3	3	3	3	na	7	EBV	neg	+
13	2	3	2	2	2	6	EBV / HHV-7	3	3	3	3	na	4	EBV / HHV-7	neg	+
14	2	3	2	1	2	2	EBV	3	3	3	2	na	3	EBV	neg	+
15	2	3	1	2	1	4	EBV / HHV-7	2	3	2	2	1	3	EBV / HHV-7	neg	+
16	2	2	1	1	1	5	-	2	2	1	1	1	4	-	neg	- cmv
17	2	2	0	1	1	5	-	2	2	1	1	1	4	-	neg	+
18	2	2	2	2	2	3	EBV	2	2	1	2	2	5	EBV	neg	+
19	2	2	1	1	1	5	HSV1 / HHV-7	2	2	2	1	1	3	HSV1 / HHV-7	neg	+
20	2	2	3	1	na	7	EBV / HHV-6b	2	2	3	2	na	7	EBV / HHV-6b	neg	+

	MUCOSITE OMS, NCIC, DISFAGIA, XEROSTOMIA, DISGEUSIA, ENV e PCR												
		Controle											
	OMS	NCIC	Disf	Xer	Disg	ENV	PCR	IgM	IgG				
1	0	0	0	1	0	0	EBV	neg	+				
2	1	1	1	2	1	5	EBV / HHV-7	HSV1-2	+				
3						ÓB	ITO	ÓBI	TO				
4	1	1	0	1	1	0	EBV	neg	+				
5	1	1	3	1	na	1	EBV	neg	+				
6	0	0	3	1	na	1	EBV	neg	+				
7	0	0	3	1	na	6	EBV / HSV1	neg	+				
8	0	0	0	1	0	0	EBV / HHV-7	neg	+				
9	0	0	3	1	na	1	EBV / HHV-7	CMV	+				
10	0	0	0	2	0	1	EBV / HHV-7	neg	+				
11	0	0	3	1	na	5	EBV / HSV1 / HHV-7 / HHV-6b	neg	+				
12	1	1	1	1	na	5	EBV / " VZV"	neg	+				
13	0	0	1	1	na	2	EBV	neg	+				
14	1	1	3	1	na	1	EBV	neg	+				
15	1	1	0	2	0	0	EBV / HHV-7	CMV	+				
16	0	0	1	1	0	1	EBV / HHV-7	neg	- cmv				
17	0	0	0	1	1	0	-	neg	+				
18	0	0	0	1	1	0	EBV	neg	+				
19	1	1	1	1	1	0	HSV1	neg	+				
20						ÓBI	ÓВІТО						

## Anexo A – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octávio Frias de Oliveira – ICESP





São Paulo, 02 de julho de 2014

Registro: NP 620/14

Ref. Solicitação de execução de estudo: Detecção dos vírus da familia Herpesviridae na mucosa bucal de pacientes irradiados para o tratamento de carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço.

Pesquisador responsável: Dra. Thais Bianca Brandão / Dra. Michele Palmieri

#### **CONSIDERAÇÕES**

Trata-se de um estudo prospectivo com a finalidade de obtenção do título de mestrado.

As neoplasias malignas em cabeça e pescoço são as seis mais prevalentes do mundo, com mais de 15000 pessoas acometidas anualmente no Brasil. Aproximadamente 90% das neoplasias malignas em cabeça e pescoço são diagnosticadas como o carcinoma espinocelular (CEC).

Este estudo tem como objetivo avaliar a excreção oral dos herpes vírus humano (HSV-1, HSV – 2, EBV, CMV, VZV, HH6, HHV7 e HHV8) e sua possível associação com o surgimento e o desenvolvimento da mucosite

A metodologia a ser utilizada compreende dois Itens: a coleta de amostras do lavado bucat de pacientes irradiados em cabeça e pescoço e a avaliação clínica da mucosa bucal. Serão incluídos no estudo, 20 pacientes adultos, de ambos os sexos, diagnosticados com CEC de cabeça e pescoço, que receberão dose radioterápica maior ou igual a 60Gy e que concordarem em participar do estudo e assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido.

#### **OBRIGAÇÕES DO PESQUISADOR**

Antes do início dos procedimentos relacionados ao estudo:

- Iniciar as atividades do estudo somente após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da <u>FMUSP</u> para execução no ICESP segundo a Res. 466/12;
- TUESD.
- Enviar Publicação dos resultados do estudo;

Informamos que sua solicitação foi DEFERIDA.

Atenciosamente

Prof. Dr. Paulo Marcelo Gehm Hof Director Gera

> Director Geral ICESP

Versão 02 de abril de 2014

instituto do Câncer do Estado de São Paulo-Octavio Frias de Oliveira (ICESP) - Organização Social de Saúde

### FACULDADE DE MEDICINA DA

### UNIVERSIDADE DE SÃO

#### PAULO - FMUSP



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DETECÇÃO DOS VÍRUS DA FAMILIA Herpesviridae NA MUCOSA BUCAL DE

PACIENTES IRRADIADOS PARA TRATAMENTO DE CARCINOMA

ESPINOCELULAR DE CABEÇA E PESCOÇO

Pesquisador: Thaís Bianca Brandão

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 37922114.9.0000.0065

Instituição Proponente: FUNDACAO FACULDADE DE MEDICINA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER Número do Parecer: 910.924 Data da Relatoria: 04/11/2014

#### Apresentação do Projeto:

Estudo descritivo onde pretende-se colher amostras de saliva de 20 pacientes que receberam radioterapia para avaliar a prevalência de vírus da família herpes.

#### Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a excreção oral dos herpes vírus humano (HSV- 1, HSV – 2, EBV, CMV, VZV, HH6, HHV7 e HHV8) e sua possível associação com o surgimento e o desenvolvimento da mucosite bucal em pacientes sob tratamento radioterápico de carcinoma espinocelular (CEC) de boca e orofaringe.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Apenas o desconforto de um bochecho com solução antisséptica.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

nenhum

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

adequado

#### Recomendações:

nenhuma

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36

Bairro: PACAEMBU CEP: 01.246-903

UF: SP Município: SAO PAULO

**Telefone:** (11)3893-4401 **E-mail:** cep.fm@usp.br

## FACULDADE DE MEDICINA DA

## UNIVERSIDADE DE SÃO

PAULO - FMUSP



Continuação do Parecer: 910.924

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado

SAO PAULO, 12 de Dezembro de 2014

Assinado por: Roger Chammas (Coordenador)

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36

Bairro: PACAEMBU

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3893-4401

CEP: 01.246-903

E-mail: cep.fm@usp.br