



CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

VISEU

AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM RELAÇÃO À MUCOSITE INDUZIDA POR TRATAMENTO ANTI-NEOPLÁSICO

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

Carla Conceição Fernandes Costa Gonçalves

Viseu, 2020



CATÓLICA
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

VISEU

AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM RELAÇÃO À MUCOSITE INDUZIDA POR TRATAMENTO ANTI-NEOPLÁSICO

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

Carla Conceição Fernandes Costa Gonçalves

Orientador: Professora Doutora Patrícia Nunes Correia

Coorientador: Doutora Raquel Silva

Dr.^a Filipa Leite

Viseu, 2020

“It always seems impossible until it’s done”

Nelson Mandela

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Professora Doutora Patrícia Correia e à minha co-orientadora Doutora Raquel Silva, por toda a disponibilidade, dedicação, simpatia, orientação, paciência e por todos os conhecimentos que me transmitiram ao longo deste projeto.

À Doutora Filipa Leite, pela recetividade em acolher o meu projeto no Instituto Português de Oncologia.

Aos meus pais por todo o apoio, carinho, compreensão e ajuda incondicional.

Ao meu irmão Luís, por toda a ajuda, paciência, motivação e sabedoria.

À minha binómia e amiga Catarina, com quem pude partilhar diariamente cada momento deste belo percurso.

Aos meus amigos e colegas com quem tive a oportunidade de trabalhar e partilhar momentos ao longo do meu percurso académico.

A todos aqueles que de alguma maneira fazem parte da minha vida e por quem tenho um carinho muito especial.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A mucosite induzida pelo tratamento anti-neoplásico é um efeito indesejável, associado a mecanismos inespecíficos de citotoxicidade por lesão no ADN. Há vários mecanismos responsáveis pela toxicidade celular, apesar de se desconhecer a complexidade destes processos, está estabelecida uma relação direta ou indireta com a síntese do ADN e fatores reguladores de genes específicos.

OBJETIVOS: Identificar e avaliar polimorfismos genéticos que possam estar relacionados com os tumores pediátricos mais frequentes e efetuar uma revisão da literatura sobre os polimorfismos genéticos associados à mucosite oral, numa população pediátrica submetida a tratamento anti-neoplásico.

MATERIAIS E MÉTODOS: Efetuou-se uma revisão narrativa e posteriormente uma pesquisa na base de dados *cBioPortal for cancer genomics*. A recolha foi feita de forma independente para os dois grupos de cancro mais prevalentes na população pediátrica, as leucemias linfóides agudas (LLA) e as leucemias mielóides agudas (LMA). Os genes foram analisados separadamente, para cada tipo de cancro, avaliando assim os polimorfismos na população em estudo.

RESULTADOS: Nas populações pediátricas de 95 pacientes com LLA e LMA, os genes *TP53*, *BRCA1*, *EP300*, *MAPK11*, *CDKN1A* e *MTHFR*, apresentaram polimorfismos, com exceção do gene *MYC* que apenas apresenta mutação no grupo de pacientes com LMA. No gene *XRCC1* não foi descrito nenhum polimorfismo, tanto no grupo de pacientes com LLA como o grupo com LMA.

CONCLUSÃO: Após uma revisão da literatura concluiu-se que determinados genes coincidentes com os encontrados na base dados, estão associados a uma suscetibilidade de desenvolver mucosite oral ou a um agravamento da mesma. Futuramente, seria importante relacionar os polimorfismos genéticos numa população pediátrica e relacionar com o grau de mucosite.

PALAVRAS-CHAVE: Polimorfismo genético; Mucosite oral; Cancro; Cancro pediátrico

ABSTRACT

INTRODUCTION: Cancer treatment-induced oral mucositis is a side effect associated with non-specific cytotoxic mechanisms of DNA damage. Cell toxicity can be induced by several mechanisms. Although its complexity is not fully understood, it is related directly or indirectly with DNA synthesis and specific gene regulatory factors.

PURPOSE: To identify and evaluate genetic polymorphisms that are likely to be involved in the most common paediatric tumours and to perform a literature review on genetic polymorphisms associated with cancer treatment-related oral mucositis in a paediatric population.

MATERIALS AND METHODS: A narrative review was performed, followed by research at the *cBioPortal for cancer genomics* database. Data were independently collected for the two most prevalent cancer groups in the paediatric population: acute lymphoblastic leukaemia (ALL) and acute myeloid leukaemia (AML). For each cancer type, was performed an individual gene analysis and polymorphisms were characterised in the study population.

RESULTS: In two paediatric populations of ALL and AML, with 95 patients each, *TP53*, *BRCA1*, *EP300*, *MAPK11*, *CDKN1A*, and *MTHFR* genes had polymorphisms. *MYC* gene was the exception, as it only depicted mutations in the AML group of patients. *XRCC1* gene showed no polymorphisms on both groups of patients.

CONCLUSION: Literature review has shown that some genes are associated with increased susceptibility or severe forms of oral mucositis coincided with those found in the database. It would be relevant to determined, in the near future, genetic polymorphisms in a paediatric population with oral mucositis.

KEYWORDS: Genetic polymorphism; Oral mucositis; Cancer; Childhood cancer

Índice Geral

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 CANCRO	1
1.2 CANCRO PEDIÁTRICO	2
1.3 TERAPIA ANTI-NEOPLÁSICA	4
1.3.1 QUIMIOTERAPIA	4
1.3.2 RADIOTERAPIA	5
1.3.3 IMUNOTERAPIA	6
1.4. PROTOCOLOS DA TERAPIA ANTI-NEOPLÁSICA	7
1.5 MANIFESTAÇÕES ORAIS DA TERAPIA ANTI-NEOPLÁSICA	12
1.6 MUCOSITE	14
1.6.1 PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL	20
2. OBJETIVOS	27
3.MATERIAIS E MÉTODOS	29
4. RESULTADOS	31
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÃO	41
7. LIMITAÇÕES E PERSPETIVAS FUTURAS	43
8. REFERÊNCIAS	45

Índice de Figuras

Figura 1- As cinco fases da MO. ⁽⁵⁵⁾	14
Figura 2- Amplificação do sinal numa mucosite. ⁽⁵⁶⁾	16
Figura 3- Mucosite Oral, Grau 2. ⁽⁴³⁾ *	18
Figura 4- Mucosite Oral, Grau 3. ⁽⁴³⁾ *	18
Figura 5- Fluxograma da pesquisa na base dados cBio Portal for Cancer Genomics.	29
Figura 6- Frequência dos polimorfismos presentes nos genes em pacientes portadores de LLA e LMA: (a) <i>BRCA1</i> (b) <i>EP300</i> (c) <i>MAPK14</i> , (d) <i>CDKN1A</i> (e) <i>TP53</i> e (f) <i>MYC</i> (g) <i>MTHFR</i>	34

Índice de Tabelas

Tabela 1- Estratégias de prevenção propostas pela AAPD. ⁽³⁸⁾	8
Tabela 2- Estratégias de prevenção propostas pelo EOCC. ⁽³⁹⁾	9
Tabela 3- Estratégias de intervenção preventiva propostas pelo EOCC. ⁽³⁹⁾	10
Tabela 4- Recomendações a favor da intervenção, baseadas numa forte evidência científica segundo a MASCC/ISOO. ⁽⁴⁰⁾	11
Tabela 5- Sugestões a favor da intervenção, baseadas numa fraca evidência científica segundo a MASCC/ISOO. ⁽⁴⁰⁾	11
Tabela 6- Estados da mucosite oral segundo a World Health Organization. ⁽⁵⁹⁾	17
Tabela 7- Fatores de risco no desenvolvimento da mucosite oral. ⁽⁵⁵⁾	20
Tabela 8- Resumo dos agentes/fármacos usados na prevenção e tratamento da MO. ⁽⁶¹⁾	23
Tabela 9- Esquema terapêutico da MO. ⁽⁶¹⁾	23
Tabela 10 - Tipos de polimorfismos. ⁽⁶⁶⁾	25
Tabela 11- Mutações presentes nos genes <i>TP53</i> e <i>EP300</i> em pacientes com LLA.....	34
Tabela 12- Mutações presentes nos genes <i>MYC</i> e <i>EP300</i> em pacientes com LMA.....	34

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Pacientes com LLA grupados por género.....	31
Gráfico 2 - Pacientes com LLA agrupados por população	31
Gráfico 3 - Pacientes com LMA agrupados por género.....	32
Gráfico 4 - Pacientes com LMA agrupados por população	32

Lista de Siglas

AAPD- *American Academy of Pediatric Dentistry*
ADN-Ácido desoxirribonucleico
BER- *Base excision repair*
BiTEs- *Bi-specific T-cell engagers*
BRCA1- *Breast cancer type 1 susceptibility gene*
BRCA2- *Breast cancer type 2 susceptibility gene*
CDKN1A- *Cyclin dependent kinase inhibitor 1*
CNA- *Copy number alterations*
CTNNB1- *Catenin beta 1*
DAMP- *Damage associated molecular pattern*
DHFR- *Dihydrofolate reductase*
DSB- *Double strand breaks*
EOCC-*European Oral Care in Cancer Group*
ESMO- *European Society for Medical Oncology*
Gy- *Gray*
GSTM1- *Glutathione S-transferase Mu-1*
GSTT1- *Glutathione S-transferase Theta-1*
IPO- Instituto Português de Oncologia do Porto
ISOO– *International Society of Oral Oncology*
JNK – *c-Jun N-terminal Kinase*
LLA-Leucemia linfoblástica/linfóide aguda
LLLT- *Low-level laser therapy*
LMA- Leucemia mielóide aguda
MASCC- *Multinational Association of Supportive Care in Cancer*
MAPK - *Mitogen-activated protein kinase*
MMPs - *Metaloproteinases da matriz*
MO-Mucosite oral
MTHFR- *Methylenetetrahydrofolate reductase*
MYC- *MYC proto-oncogene, bHLH transcription factor*
NF-kB- *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*
nrf2 - *Nuclear factor erythroid-2-related factor 2*
PG- Polimorfismo genético

ppm- Partículas por milhão

QT-Quimioterapia

RFC- *Reduced folate carrier*

RNA- Ácido ribonucleico

ROS- *Reactive oxygen species*

RT- Radioterapia

SNP- *Single-nucleotide polymorphism*

SSB- *Single-stranded break*

STAT3- *Signal transducer and activator of transcription 3*

TARGET- *Therapeutically Applicable Research to Generate Effective Treatments*

TNF- α - *Tumour Necrosis Factor alpha*

TP53- *Tumor Protein p53*

WHO - *World Health Organization*

WNT- *Wnt signaling pathways*

XRCC1- *X-ray repair cross complementing 1*

%- Percentagem

1. Introdução

1.1 Cancro

O cancro é a segunda causa principal de morte mundial. A Europa registou 23,4% de casos de cancro e 20,3% de mortes por cancro no ano de 2018, o que representa 1,93 milhões de mortes por cancro. ^(1,2,3) No ano de 2018, em Portugal, o cancro do colo retal e o cancro da mama foram os mais prevalentes, afetando 10270 e 6974 pessoas, respetivamente. ⁽¹⁾

O cancro, comumente designado de neoplasia maligna, é uma entidade clínica complexa, consiste em alterações no crescimento e divisão celular normal, com um crescimento desordenado e descontrolado das células cancerígenas, que deixam de responder aos fatores responsáveis pelo controlo do crescimento celular. Este processo pelo qual é formada uma neoplasia maligna, denomina-se carcinogénese. ^(4,5,6)

A carcinogénese é composta por 3 fases principais, é um processo dependente da exposição a determinados agentes, numa dada frequência e num dado período de tempo e ainda pela interação entre eles. A primeira fase é denominada por iniciação. Nesta fase ocorre um dano provocado por agentes biológicos, químicos ou físicos, este dano no ácido desoxirribonucleico (ADN) pode ser revertido ou dar origem a uma mutação, quando não é reparado. Uma mutação por si só, pode não originar imediatamente um tumor, no entanto a célula pode, posteriormente, ficar suscetível à fase seguinte, a promoção. As células que sofreram iniciação não são detetáveis, até serem expostas a um agente promotor. As células que sofreram iniciação podem ou não tornar-se malignas. Na segunda fase, a promoção, é quando ocorre a malignização da célula propriamente dita, é quando as células que se encontram geneticamente alteradas, sofrem a ação dos agentes cancerígenos de uma forma lenta e gradual. O período entre a fase de iniciação e promoção denomina-se período de latência, este período varia de acordo com o tipo de agente, a sua dosagem e as características da célula alvo. Numa última fase dá-se a progressão, fase esta, em que o cancro já se encontra instalado, levando ao aparecimento das primeiras manifestações clínicas. ^(7,8) Estas células cancerígenas migram frequentemente para outras regiões do corpo humano, através dos sistemas circulatório e linfático, originando assim metástases, isto é, novos tumores semelhantes ao tumor primário, mas com uma localização diferente. ^(4,5)

Os genes envolvidos na carcinogénese podem agrupar-se em quatro grupos: os oncogenes, genes supressores de tumores, genes reguladores da apoptose e os genes de reparação de ADN. ⁽⁷⁾

Os oncogenes são resultado da mutação de proto-oncogenes, responsáveis pela regulação da proliferação e diferenciação celular. A mutação destes oncogenes resulta numa estimulação direta e contínua das vias responsáveis pelo crescimento e divisão celular, o metabolismo celular, a reparação de ADN, angiogénese e outros processos fisiológicos. Existem mais de 100 oncogenes que podem contribuir para a malignização, estes oncogenes resultam de polimorfismos genéticos específicos. ⁽⁹⁾

Os genes supressores de tumores como o *TP53*, *BRCA1* e o *BRCA2*, têm um papel importante na divisão celular e na reparação do ADN, são fundamentais na deteção do crescimento inadequado de determinadas células ou no dano provocado no ADN. Estes genes ao sofrerem mutações tornam-se incapazes de realizar as suas funções levando à formação de tumores. A p53 é uma proteína reguladora muito importante, impede a replicação do ADN danificado em células normais, promovendo assim a apoptose celular das células com dano no ADN. Quando a p53 se encontra inativada ou alterada, permite que as células anormais se dividam, levando à formação de uma neoplasia. Quando genes como o *BRCA1* e *BRCA2* se encontram mutados, há uma diminuição das suas funções, aumentando assim o risco de desenvolver cancro da mama e dos ovários. ^(9,10)

Relativamente aos agentes cancerígenos, existem agentes extrínsecos, como os químicos (tabaco e álcool), os físicos (radiação) e os biológicos (vírus). Há também agentes intrínsecos como os genéticos, os hormonais e condições imunológicas. Durante a carcinogénese são formados radicais livres, extremamente reativos e a sua formação pode ser inibida por anti-oxidantes, prevenindo assim o seu efeito nefasto no ADN. Alguns vírus afetam o ADN, causando mutações no mesmo, enquanto outros se integram no próprio cromossoma da célula normal, enquanto outros alterando a estrutura do cromossoma. Ambas as vias de atuação, resultam na ativação de oncogenes e inativação de genes supressores de tumores. Temos como exemplo, alguns vírus como, o *Epstein-Barr* e o vírus do papiloma humano. ^(7,8)

1.2 Cancro pediátrico

Entende-se por cancro pediátrico, neoplasias malignas que afetam crianças até aos 15 anos de idade. O cancro pediátrico é considerado a segunda causa de morte mais comum nas crianças e jovens em todo o mundo. A incidência mundial média anual em crianças com menos de 15 anos, é de 140 novos casos por milhão de crianças. Tem-se verificado um aumento de 0,5% a 1% por ano, na incidência do cancro. ^(11,12,13)

Segundo o registo oncológico nacional, de 2016, do Instituto Português de Oncologia do Porto (IPO), estavam registados cerca de 80 casos de tumores em crianças até aos 15 anos de idade. Desses 80 casos, 30 correspondiam a leucemias e 17 a linfomas. ⁽¹⁴⁾

De uma maneira geral, uma neoplasia numa criança apresenta um potencial de crescimento e desenvolvimento superior quando comparada com um adulto, o que poderá afetar o desenvolvimento normal da criança. O pico de incidência situa-se entre os 2 e 5 anos de idade. ⁽¹⁵⁾

Cerca de 30% de todos os cancros pediátricos são leucemias e a mais comum é a leucemia linfoblástica aguda (LLA). Por outro lado, a incidência de tumores embrionários, como o neuroblastomas, retinoblastomas e nefroblastomas, é muito baixa em adolescentes, sendo mais prevalentes em crianças até aos 5 anos de idade. ^(11,16,17) A leucemia é uma proliferação descontrolada de precursores dos glóbulos brancos imaturos e anormais, devido a uma variação da linhagem hematopoiética e uma diferenciação aberrante. As leucemias são classificadas de acordo com a célula hematopoiética primária afetada e pelo comportamento agudo ou crónico. A LLA, como o próprio nome indica, tem uma evolução aguda, consiste numa proliferação descontrolada de uma célula hematopoiética progenitora de longa duração, cuja diferenciação foi anormal, resultando assim num elevado número de linfoblastos, que preenchem a medula óssea, impedindo que sejam produzidas células normais. Como fatores de risco, temos algumas síndromes, como a Síndrome de Down, elevadas doses de radiação, certos químicos como o benzeno, certos vírus como o Epstein-Barr e o tabaco. O diagnóstico pode ser feito através da morfologia, citotóxica e imunofenotipagem por citometria do fluxo de aspirado da medula óssea. O tratamento da LLA é dividido em 4 fases, a indução, a profilaxia do sistema nervoso central, a consolidação ou intensificação e a manutenção. ^(11, 12, 13,15,18- 25)

O cancro nas crianças e nos jovens quanto à sua incidência, características e localização difere do cancro nos adultos. As neoplasias malignas que afetam os adultos estão geralmente relacionadas com a exposição a determinados fatores de risco, tais como o tabagismo, o alcoolismo, estilos de vida, tipo de alimentação, stress, ocupação e agentes cancerígenos específicos. Contudo, nas crianças não se observa este tipo de associação. O cancro pediátrico, está geralmente associado a fatores endógenos, principalmente a fatores genéticos, e a fatores exógenos como agentes físicos, químicos e biológicos. A radiação ionizante, agentes poluentes, determinados vírus e certas características inatas são alguns dos fatores de risco, já conhecidos, que aumentam o risco de desenvolver uma leucemia e possivelmente outros tipos de cancro em crianças. ^(11,12,17)

O cancro pediátrico geralmente afeta as localizações anatómicas mais profundas, não afeta o epitélio, não ocorre exfoliação das células tumorais, nem hemorragias superficiais, o que por vezes torna a deteção do cancro mais complexa. ⁽¹⁵⁾ Nas crianças o cancro apresenta períodos de latência menores, é mais invasivo tendo uma velocidade de crescimento mais rápida do que nos adultos e por isso apresenta respostas mais positivas ao tratamento e um melhor prognóstico. ⁽¹⁷⁾

É fundamental que o diagnóstico seja precoce e minucioso, contudo, muitas vezes, devido à presença de determinados sintomas inespecíficos e comuns na infância, a deteção do cancro infantil

é difícil. Os pais devem garantir que as crianças façam exames de rotina e estejam alerta perante determinados sintomas incomuns que possam persistir nas crianças, como a palidez sem razão aparente, perda de energia, aumento na tendência ao sangramento e feridas, dores de cabeça frequentes, vômitos, febre, alterações de visão ou nos próprios olhos e ainda perdas de peso excessivas. Em suma, a sobrevivência do cancro infantil depende em grande parte de um diagnóstico preciso, mas também de um tratamento adequado e eficaz. ^(11,12,15,26)

1.3 Terapia anti-neoplásica

A escolha de um tratamento adequado associado a um diagnóstico precoce é fundamental para sucesso dos pacientes oncológicos pediátricos e conseqüentemente uma diminuição das taxas de mortalidade. ⁽¹¹⁾

Os principais métodos de tratamento do cancro são a quimioterapia, a radioterapia, transplantes de células hematopoiéticas e a cirurgia ressetiva. A cirurgia é uma parte fundamental, pois através da biópsia é possível alcançar um diagnóstico concreto. O tratamento cirúrgico do cancro tem 2 grandes objetivos: dissecar o tumor e outros tecidos envolvidos, como nódulos linfáticos e remoção de órgãos endócrinos que podem alterar e disseminar a doença. A quimioterapia (QT) e a radioterapia (RT), ao contrário da cirurgia, atuam de maneira não específica. Estas hipóteses de tratamento podem ser usadas em separado ou combinadas. ^(11,17,27,28)

1.3.1 Quimioterapia

A QT é a base do tratamento anti-neoplásico pediátrico, seja isolada, ou em combinação com outros métodos como a radioterapia e a cirurgia. Esta terapia consiste na administração de um ou vários fármacos, que atuam num determinado tipo de tumor. O mecanismo de ação da QT, consiste na atuação da mesma na fase de divisão celular, destruindo as células cancerígenas, impedindo assim que estas se multipliquem. Existem vários fármacos quimioterápicos, que podem ser administrados às crianças, consoante o tipo de cancro e o tipo de terapia que pretendemos aplicar. Estes fármacos utilizados na QT normalmente são administrados pelas vias endovenosa, intramuscular e pela via oral. Os fármacos mais utilizados são a doxorubicina, fluorouracilo e ifosfamida. O metotrexato por exemplo, é um análogo do ácido fólico e de uma maneira indireta vai inibir a síntese do ADN. O metotrexato é absorvido pelas células, através do transportador RFC, causando uma inibição da atividade da dihidrofolato redutase (DHFR). Como resultado, ocorre uma acumulação de dihidrofolato e uma redução de folato na célula. Este fármaco é utilizado para o tratamento de variadas

neoplasias, em concentrações diferentes. A doxorubicina é um dos fármacos anti-neoplásicos mais utilizados, seja individualmente, ou em combinação com outros fármacos, devido ao seu amplo espectro de ação, é utilizada para o tratamento de tumores sólidos e tumores hematológicos. A atividade anti-tumoral da doxorubicina, passa pela capacidade que este fármaco tem de se intercalar na hélice do ADN, ligando-se covalentemente às proteínas envolvidas na replicação e transcrição do ADN. Contudo estes agentes terapêuticos, usados na QT ao inibirem a proliferação celular, mas de forma não seletiva, acabam por destruir não só as células cancerígenas, mas também as células normais, como as células da medula óssea, as células dos folículos capilares ou até mesmo as células epiteliais do trato gastrointestinal. A QT na maior parte das vezes provoca efeitos secundários a curto prazo e por vezes a longo prazo. O nível e o tipo de toxicidade provocados pela QT depende do estado imunitário do paciente pediátrico, a frequência e a dosagem do tratamento, a via de administração e do tipo de tumor. Em muitos pacientes pediátricos, estes fármacos utilizados na QT podem provocar inúmeras complicações orais, nutricionais e neurológicas. (16,17,28, 29,30,31,32)

1.3.2 Radioterapia

A RT é uma terapêutica anti-neoplásica muito usada em separado ou combinada com a QT e/ou a cirurgia. Esta modalidade terapêutica oncológica atua diretamente no ADN das células cancerígenas, podendo manter a estrutura e função das células normais, esta terapia atua de uma forma localizada. (33)

Esta modalidade terapêutica, é uma das formas mais efetivas de tratamento para o cancro, tendo um papel importante e indispensável em muitos cancros da cabeça e do pescoço e linfomas. A dose de radiação administrada, geralmente depende de fatores como, a história médica e geral do paciente, a localização do cancro, o tipo de cancro e a sensibilidade dos tecidos circundantes. A quantidade de radiação é medida na unidade Gray (Gy) e varia de acordo com o estágio do cancro e o tipo de cancro. (34)

Geralmente, são administradas pequenas frações, sendo o total 10 Gy por semana, até atingir uma dose total de 60 a 70 Gy. O principal objetivo da RT é proporcionar uma dose de radiação que seja letal para o tumor, minimizando ao mesmo tempo a exposição das áreas circundantes como por exemplo, a mucosa oral, as glândulas salivares, a maxila e a mandíbula que inevitavelmente estão expostas à radiação. (4,17,31,35)

De uma forma geral, as complicações provocadas pela RT podem ser classificadas em agudas ou crónicas. Os efeitos agudos normalmente aparecem numa fase inicial da terapêutica e têm uma duração de 2 a 3 semanas após o término da RT, enquanto que as complicações crónicas, podem ser

evidentes em qualquer altura, mesmo após o fim do tratamento podendo durar semanas ou anos, como a osteorradionecrose. ⁽³¹⁾

1.3.3 Imunoterapia

Diversas abordagens imunoterapêuticas têm vindo a ser estudadas, para o tratamento de leucemias, em específico a LLA. O blinatumomab é um anticorpo monoclonal, pertencente aos agentes bi-específicos de células T (BiTEs), que se liga ao CD19 (expresso na maioria das LLA do tipo B) e ao CD3 (presente nas células T), pondo as células T em contato com os linfoblastos B. Pacientes com LLA que realizarem imunoterapia com o blinatumomab (por infusão contínua, durante quatro semanas, de seis em seis semanas), atingiram uma remissão completa ou uma remissão completa com recuperação hematológica parcial. A terapia com células T geneticamente modificadas, é uma abordagem imunoterapêutica que tem demonstrado bons resultados no tratamento da LLA, contudo é necessário realizar mais estudos de modo a responder a algumas questões que permanecem em aberto como a duração da resposta, o mecanismo de resistência e as sequelas a longo prazo neste tipo de tratamento. ⁽³⁶⁾

1.4. Protocolos da terapia anti-neoplásica

O paciente oncológico requer um acompanhamento específico, não só por médicos oncologistas, enfermeiros, nutricionistas, mas também por médicos dentistas. É necessário fazer-se um acompanhamento multidisciplinar, no início, durante e no final do tratamento anti-neoplásico. É aconselhável visitar o médico dentista pelo menos quatro semanas, antes do início da QT e/ou da RT.⁽³⁷⁾

A consulta de medicina dentária/estomatologia é essencial e deve ser feita um mês antes do início da terapia anti-neoplásica. Esta avaliação tem como objetivo, identificar e estabilizar ou até mesmo eliminar potenciais fontes de infecção e locais de trauma na cavidade oral, sem atrasar desnecessariamente o início da terapia anti-neoplásica, nem provocar complicações. Nestes pacientes devido à sua imuno-supressão, o tratamento dentário é em geral mais radical, optando-se por extrações quando o prognóstico é dúbio e restaurações de lesões pequenas ou aparentemente inativas. Outro parâmetro importante nesta consulta, é a educação, do paciente pediátrico e dos pais, sobre a importância dos cuidados de higiene oral otimizados, para minimizar as complicações orais durante o período de tratamento.^(20,31)

Aquando da avaliação oral, o médico dentista deve rever a história médica do paciente, o status hematológico e a terapêutica quimioterápica e radioterápica propostas.⁽²⁰⁾

Idealmente, todos os procedimentos dentários necessários devem ser realizados antes do início da terapia anti-neoplásica. Caso não seja possível deve-se priorizar as fontes infecciosas agudas, como a extração de dentes cariados, dentes com doença periodontal avançada, tratamentos endodônticos radicais em dentes permanentes e otimizar restaurações que possam traumatizar os tecidos orais.⁽²⁰⁾

A associação americana de odontopediatria dentária (AAPD), reconhece que o odontopediatra tem um papel fundamental no diagnóstico, na prevenção, na estabilização e no tratamento de patologias orais e/ou dentárias, que poderão comprometer a qualidade de vida do paciente oncológico. Na Tabela 1, podemos ver as estratégias preventivas, propostas pela AAPD.^(20,38)

Tabela 1- Estratégias de prevenção propostas pela AAPD. ⁽³⁸⁾

Higiene Oral

A higiene oral inclui, a escovagem dos dentes e da língua 2 a 3 vezes por dia. A escova deve ser idealmente suave, tendo sempre em consideração o estado hematológico. Escovas elétricas e fios dentários, estão indicados, apenas se o paciente os souber manusear devidamente. Pacientes com uma higiene oral deficiente, e/ou doença periodontal, podem fazer bochechos de clorexidina diariamente.

Dieta

É importante que os dentistas eduquem os pacientes e os pais, no sentido de evitar alimentos cariogénicos, como os hidratos de carbono e algumas medicações pediátricas ricas em açúcar. Durante a QT, a RT e o transplante de células estaminais hematopoiéticas, devem ser evitados alimentos crocantes, picantes e excessivamente ácidos.

Flúor

Devem ser usadas pastas fluoretadas e o uso de suplementos de flúor quando indicados. A aplicação de flúor tópico, em pacientes cooperantes, pode ser benéfica.

Cuidados labiais

Os cremes e pomadas à base de lanolina são eficazes.

Trismos

Os Pacientes sujeitos a RT nos músculos mastigatórios, podem desenvolver trismos. É aconselhável a realização de exercícios de alongamento e/ou fisioterapia, diariamente, antes do tratamento anti-neoplásico.

Redução da radiação nos tecidos moles

Em casos de radiação da cabeça e do pescoço, o uso de protetores revestidos a chumbo, próteses e protetores das glândulas devem ser discutidos com o oncologista.

Educação

É imprescindível a educação dos pacientes e dos pais, relativamente aos cuidados de higiene otimizados, de modo a minimizar problemas orais e o desconforto ao longo de todo o tratamento.

O *European Oral Care in Cancer Group* (EOCC) é um grupo multidisciplinar composto por especialistas em saúde oral de toda a Europa, com o objetivo de melhorar os cuidados de saúde oral dos pacientes com cancro. Este grupo tem como finalidade melhorar os cuidados de saúde oral. As manifestações orais nem sempre podem ser evitadas, mas a aplicação de determinados protocolos, como o proposto pelo EOCC na Tabela 2, visam a prevenir o aparecimento de determinadas patologias e melhorar a qualidade de vida do paciente oncológico. ⁽³⁹⁾

As manifestações orais derivadas da terapia anti-neoplásica ocorrem frequentemente nos pacientes oncológicos, pelo que é fundamental a aplicação de determinadas medidas que visam à sua prevenção. As medidas de prevenção a aplicar durante a terapia anti-neoplásica variam de acordo com indivíduo, com o tipo de cancro e o tipo de tratamento. Na Tabela 3 estão representadas as estratégias preventivas de acordo com o risco do paciente. ⁽³⁹⁾

Tabela 2- Estratégias de prevenção propostas pelo EOCC. ⁽³⁹⁾

Avaliação oral

- Todos os pacientes, especialmente aqueles que irão dar início ao transplante de células hematopoiéticas e radiação da cabeça e do pescoço, devem fazer uma avaliação oral e dentária por um medico dentista.
- Deve ser avaliado o estado geral da saúde oral do paciente e deve ser feita a identificação de potenciais focos ou a existência de infeção, trauma ou lesão.
- Se necessário fazer um seguimento periodontal durante e depois do tratamento.
- A avaliação da cavidade oral deve ser feita por um médico especialista, com registo das alterações na mucosa, a presença ou ausência de dor (segundo uma escala de dor) e o estado nutricional do paciente.
- As avaliações devem ser regulares. Pacientes com elevado risco de desenvolver MO, devem ter avaliações orais diárias.
- Os pacientes devem ser instruídos a examinar a sua boca, de modo a detetarem qualquer tipo de alteração ao seu médico.

Cuidados de saúde oral

- Todos os pacientes devem receber instruções de modo a manter uma higiene oral adequada.
- Todos os pacientes devem receber as instruções de higiene oral por escrito e verbalmente, de modo a prevenir determinadas alterações orais.
- Dependendo do estado do oral do paciente, deve ser feita uma escovagem suave dos dentes, das gengivas e da língua, duas a quatro vezes por dia, idealmente depois das refeições e antes de ir dormir.
- É aconselhável, o uso de escovas de cerdas macias (manuais ou elétricas).
- Em pacientes com a cavidade oral dorida ou dificuldade na abertura bucal, podem ser utilizadas esponjas moles, ainda que estas não sejam muito eficazes no controle da placa bacteriana, não substitui a escovagem convencional.
- A lavagem da língua, não é aconselhada em pacientes que estejam a realizar radioterapia da cabeça e do pescoço.
- De modo a prevenir infeções, a escova de dentes deve ser armazenada corretamente, virada para cima.
- A escova de dentes deve ser substituída regularmente, todos os meses, ou ainda mais frequentemente, em casos de elevado risco de infeção.
- De modo a proteger o esmalte devidamente, devem ser utilizadas pastas dentífricas fluoretadas (1000 - 1500 ppm de flúor). Alguns pacientes que estejam a realizar radioterapia da cabeça e do pescoço poderão necessitar de concentrações mais elevadas de flúor (>1500 ppm).
- O escovilhão interdentário, podem ajudar na redução da placa nos espaços interproximais.
- É fundamental que o paciente se mantenha sempre hidratado, deve beber muita água ao longo do dia.
- É recomendado que o paciente faça bochechos com água, solução salina (0.9%) ou água salgada, quatro vezes ao dia.
- O uso de lubrificantes, batons ou cremes podem ajudar a lubrificar os lábios.

Tabela 3- Estratégias de intervenção preventiva propostas pelo EOCC. ⁽³⁹⁾

<p>Baixo Risco</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pacientes sem problemas orais prévios, fatores de risco mínimos e um tratamento que não provoca lesões orais moderadas a severas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Educar e encorajar o paciente a reportar qualquer alteração. • Avaliação e registo correto de alterações na cavidade oral. • Uma boa higiene regular, incluindo gargarejos, de modo a remover os detritos indesejáveis. • Redução da placa • Uso de pastas dentífricas ricas em flúor. • Usar solução de cloreto de sódio ou água salgada (0,9%). • Encorajar o cessamento dos hábitos tabágicos • Intervenção nutricional com um nutricionista, de modo a detetar possíveis desnutrições, antes do início da terapia anti-neoplásica.
<p>Risco Moderado</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pacientes com história previa de problemas orais, a receber tratamentos conhecidos por causar MO moderada, baixa dose de radiação da cabeça e do pescoço, agentes farmacológicos e/ou fatores de risco que possam causar lesões orais. 	<p>Para além das intervenções de baixo risco, as seguintes devem ser adicionadas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Monitorizações adicionais, de modo a monitorizar qualquer alteração na cavidade oral. • Aumento dos bochechos com solução de cloreto de sódio ou água salgada (0.9%). • Crioterapia, durante a injeção em bolus de 5-fluorouracilo e infusão de melfalano. • Bochechos orais com caphosol e benzidamina. • Uso de protetores da mucosa (mugard e epsil).
<p>Risco Elevado</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pacientes com história prévia de complicações orais moderadas ou graves, elevadas doses de QT e /ou RT, antes do transplante de células-tronco, radiação radical na cabeça e no pescoço. 	<p>Completando as indicações do baixo e moderado risco deve ser adicionado:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Monitorização e acompanhamento nutricional • Fazer profilaxia anti-infecciosa. • Uso da palifermina no transplante de células hematopoiéticas. • Terapia com laser de baixa intensidade

A associação multinacional de cuidados de suporte no cancro e a sociedade internacional de cancro oral (MASCC/ISOO) desenvolveram orientações clínicas para o tratamento da MO, baseadas num critério de evidência científica. Nas Tabelas 4 e 5 estão representadas as diretrizes clínicas a seguir baseadas na evidência. ⁽⁴⁰⁾

Tabela 4- Recomendações a favor da intervenção, baseadas numa forte evidência científica segundo a MASCC/ISOO. ⁽⁴⁰⁾

Recomendações a favor da intervenção, baseadas numa forte evidência científica

1. É recomendado o uso de crioterapia, durante 30 minutos, para prevenir a MO em pacientes submetidos a QT com injeções em bolus de 5-fluorouracilo.
2. É recomendado o uso da palifermina, um fator de crescimento dos queratinócitos recombinantes (KGF-1/Palifermina), para a prevenção da MO (dose: 60µg/Kg/dia, durante 3 dias antes do tratamento e durante 3 dias após o transplante), em pacientes submetidos a altas doses de radiação, seguida de transplante de células estaminais hematopoiéticas.
3. É recomendado o uso do laser de baixa potência (LLLT) , para prevenção da MO em pacientes submetidos aos transplante de células hematopoiéticas associado a doses elevadas de QT com ou sem irradiação total do corpo.
4. É recomendado o uso de analgesia como morfina para o tratamento da dor associado a MO, em pacientes submetidos a transplante de células estaminais hematopoiéticas.
5. É recomendado o uso de bochechos de benzidamina para a prevenção da MO, em pacientes com cancro da cabeça e do pescoço, submetidos a a doses moderadas de RT (até 50 Gy), sem QT concomitante.

Tabela 5- Sugestões a favor da intervenção, baseadas numa fraca evidência científica segundo a MASCC/ISOO. ⁽⁴⁰⁾

Sugestões a favor da intervenção, baseadas numa fraca evidência científica

1. É sugerida a aplicação de protocolos de higiene oral para prevenir a MO, em todas as faixas etárias e modalidades da terapia anti-neoplásica.
2. É sugerido o uso de crioterapia para prevenir a MO, em pacientes submetidos a QT com doses elevadas de melfano, com ou sem irradiação total do corpo como condicionamento do transplante de células estaminais hematopoiéticas.
3. É sugerido do laser de baixa potência (LLLT), no comprimento de onde de aproximadamente 632.8 nm, para prevenir a MO em pacientes submetidos a RT sem concomitância com a QT, para cancros da cabeça e do pescoço.
4. É sugerido o uso de fentanil transdérmico, no tratamento da dor associada a MO, em pacientes submetidos a QT, com ou sem irradiação total do corpo.
5. É sugerido o uso de soluções de morfina a 2%, para o tratamento da dor associada à MO, em pacientes submetidos a Qt e RT da cabeça e do pescoço.
6. É sugerido o uso de colutórios de doxepina a 0,5% para o tratamento da dor associada à MO.
7. É sugerida a administração sistémica de suplementos de zinco por via oral, o que pode ser benéfico na prevenção da MO, em pacientes submetidos a RT com ou sem QT.

1.5 Manifestações orais da terapia anti-neoplásica

Apesar da grande evolução no âmbito das terapias anti-neoplásicas, é preciso ter em consideração que as modalidades de tratamento atuais, podem resultar em condições adversas, levando não só a uma diminuição da qualidade de vida dos pacientes pediátricos, mas também aumentar a morbilidade e a mortalidade. ^(17,31)

Cerca de 40% dos pacientes sujeitos a terapias anti-neoplásicas apresentam efeitos secundários na cavidade oral e esses números podem chegar a 90% em crianças menores de 12 anos. ⁽²⁸⁾

Nas últimas décadas, os avanços no tratamento do cancro pediátrico, obrigaram a que esta população recorresse a um acompanhamento médico mais específico e detalhado, evitando não só as complicações derivadas da própria neoplasia, mas também do tratamento anti-neoplásico, incluindo as manifestações orais. Em muitos pacientes, a QT e a RT podem provocar um grande número de complicações orais como a mucosite oral (MO), dor, infeção, hemorragia, xerostomia, problemas nutricionais, disgeusia, cáries dentárias, trismo, infeções orais, osteorradionecrose e alterações no desenvolvimento dentário. Estas complicações poderão estar associadas ou não, a uma higiene oral deficiente e/ou um aumento de alimentos cariogénicos. ^(15,17,31,33) A xerostomia é uma complicação clínica da terapia anti-neoplásica, o equilíbrio da cavidade oral é obtido através da saliva, que funciona como uma solução de tamponamento, 90% da saliva é produzida pelas glândulas salivares maiores e a restante é produzida pelas glândulas salivares menores. A radiação ionizante pode provocar danos irreversíveis nas glândulas salivares e levar a uma diminuição do fluxo salivar. A hipossalivação é a diminuição propriamente dita do fluxo salivar, a xerostomia é uma sensação de secura da cavidade oral, relacionada ou não com uma diminuição quantitativa ou qualitativa das glândulas salivares. Pacientes portadores de xerostomia para além do desconforto oral, podem experienciar disgeusia, dificuldades na fonação e na deglutição. A extensão da lesão é dependente da dose de radiação utilizada e sabe-se que a xerostomia poderá tornar-se numa complicação oral crónica, quando as doses de radiação excedem os 40 Gy. A redução do fluxo salivar pode ainda aumentar a suscetibilidade às cáries, infeções bacterianas e fúngicas e ainda ao comprometimento da integridade da mucosa oral. Na primeira semana em que o paciente pediátrico inicia a RT, é habitual verificar-se uma fase aguda de xerostomia, podendo ou não persistir mesmo até depois de terminar a terapia radioterápica. A nível terapêutico, é aconselhado o uso de medicação sistémica, a pilocarpina, administração frequente de água e substitutos de saliva durante o tratamento anti-neoplásico. ^(17,31,41-44)

Outra complicação muito frequente durante a terapia anti-neoplásica é a disgeusia que consiste numa alteração sensorial do paladar. Ocorre como resultado direto da RT, nas papilas gustativas, pois estas são radiossensíveis a intensidades a partir dos 10 Gy. Para além do dano nas papilas gustativas,

esta condição também ocorre devido às alterações no fluxo salivar. A maioria dos pacientes classifica esta disfunção do paladar como moderada, a maior parte recupera a sensação gustativa 2 a 6 semanas após a interrupção da RT, não necessitando assim de nenhum tipo de tratamento. Contudo em 15% dos pacientes, esta complicação pode persistir até 5 a 7 anos após o término da terapia anti-neoplásica.^(31, 41,43)

A cárie dentária devida à radiação é uma complicação indireta da terapia anti-neoplásica. As alterações salivares, a higienização oral dificultada, o aumento do consumo de alimentos cariogênicos, favorecem a colonização bacteriana levando a um aumento do risco de desenvolver cáries dentárias. A prevenção de cáries através de uma higiene oral adequada e a realização de restaurações são essenciais para evitar extrações dentárias, após tratamentos anti-neoplásicos, que acarretam um elevado risco de osteonecrose. A cárie de radiação é uma cárie rampante, sem uma localização específica, levando a uma destruição rápida da estrutura dentária. Geralmente, as regiões cervicais dos incisivos mandibulares são as mais afetadas. Estas cáries são de progressão muito rápida, em apenas meses poderá levar à perda de dentes. Doses inferiores a 30Gy provocam danos mínimos nas estruturas dentárias, enquanto que doses superiores a 60Gy aumentam em 10 vezes o risco de destruição das estruturas dentárias.^(17,33,41,45,46)

Como os agentes anti-neoplásicos não fazem uma seleção das células alvo, não distinguindo entre células normais e células cancerígenas, podem ocorrer anomalias no desenvolvimento dentário e craniofacial, essas anomalias dependem da fase do desenvolvimento, da dose de radiação e da duração do tratamento. Quanto mais nova, mais suscetível é a criança, pois ambas as dentições (a decídua e a permanente), se encontram em formação. A atividade anti-neoplásica tem a capacidade de alterar processos fundamentais no desenvolvimento dentário, a odontogênese e a amelogênese. Ao contrário da RT, que afeta apenas as células irradiadas, a QT tem um efeito sistêmico, podendo provocar efeitos dentários, ainda que a área do tumor seja distante. Entre as variadas anomalias de desenvolvimento conhecidas, as mais comuns são as agenesias dentárias, atrasos na cronologia da erupção, malformações radiculares, hipoplasias de esmalte, microdontias/macrodontias e distúrbios no crescimento craniofacial. Estas anomalias e distúrbios no crescimento afetam a função e a estética.^(17,46,47,48,49)

1.6 Mucosite

Uma das complicações mais comuns devido ao tratamento anti-neoplásico, transplante de células estaminais hematopóéticas e tumores malignos da cabeça e do pescoço é a MO. ^(50,51) A MO caracteriza-se como uma lesão inflamatória eritematosa da cavidade oral e da mucosa da orofaringe, induzida por tratamento quimioterápico ou radioterápico. Nos casos em que a dose de radiação excede os 30Gy, o risco de desenvolver MO é praticamente 100%. Afeta geralmente a mucosa oral não-queratinizada, envolvendo na maior parte das vezes o palato mole, a mucosa jugal, o bordo lateral da língua, pavimento da boca e os lábios. ^(28,31,52)

Normalmente, a MO começa-se a manifestar entre 3 a 10 dias desde o início da quimioterapia, e poderá ter uma duração de 3 semanas. ⁽⁵³⁾ Os principais sintomas associados são a inflamação, lábios e língua ulcerados, hemorragia, xerostomia, descamação da mucosa da gengiva e do palato e dor. ⁽⁵⁴⁾ Gradualmente, se não estiver associada a uma infecção, a MO irá desaparecer. ⁽⁵⁰⁾ Os efeitos citotóxicos da MO não se limitam às células tumorais, afetando também os tecidos normais. Atualmente, sabe-se que a MO é um processo biológico complexo e não apenas uma consequência direta da lesão celular, como podemos observar na Figura 1. ⁽⁵⁵⁾

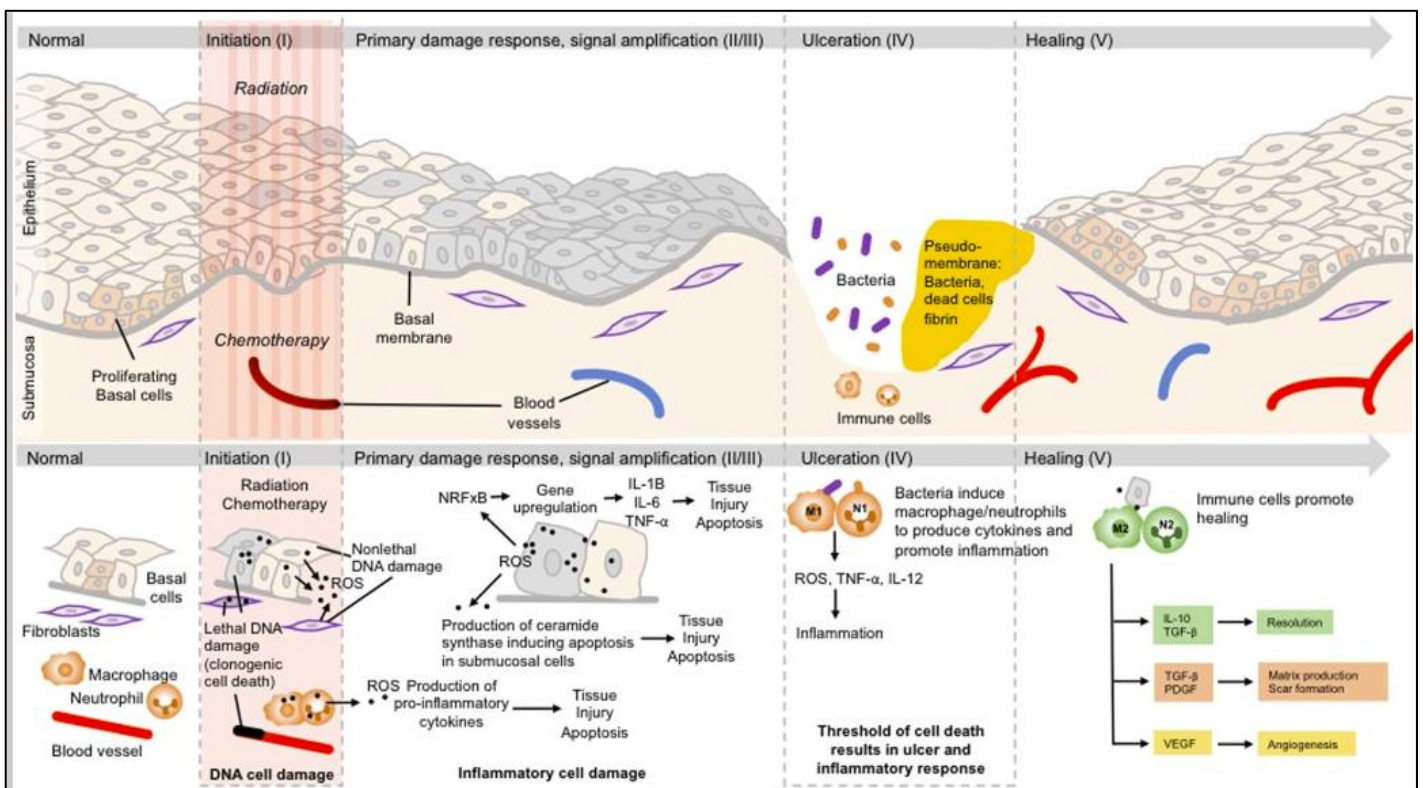


Figura 1- As cinco fases da MO. ⁽⁵⁵⁾

A primeira fase da formação da MO é a iniciação. A sua principal característica é o desenvolvimento das espécies reativas de oxigênio (ROS) e o consequente stress oxidativo. Este stress oxidativo tem um papel importante na formação da MO. Numa primeira fase as ROS induzem dois fatores de transcrição importantes, o fator nuclear de transcrição kB (*NF-kB*) e o *STAT3*, ambos são responsáveis pela ativação de genes que estão associados ao dano tecidual mediado por citocinas. A via de sinalização do NRF2 também influencia o nível de stress oxidativo induzido por radiação, os pacientes com deficiências na atividade da isoenzima glutationa transferase, possuem um risco aumentado de desenvolver MO. O segundo componente da fase iniciação envolve o sistema imunitário do hospedeiro, as células sofrem apoptose ou necrose, como consequência da radiação. Para além disso, as células que sofreram apoptose ou necrose devido à radiação, podem libertar padrões moleculares associados a danos (DAMP), que se ligam a recetores específicos, cuja localização são as células epiteliais e endoteliais, ocorrendo assim a ativação de fatores transcrição, que desempenham um papel importante na lesão da mucosa. ^(35,52)

Todo o processo referido acima, leva à segunda fase da formação da MO, resposta ao dano primário. Apesar de esta fase ainda não apresentar alterações clínicas é extremamente ativa. Ainda que a morte celular seja uma consequência direta da ocorrência de quebras na cadeia de ADN, ocorrem sinalizações intracelulares e intercelulares significativas no tecido conjuntivo, endotelial e submucoso. As consequências desta atividade irão afetar o epitélio mucoso. As ROS, a QT e a RT, podem ativar inúmeros fatores de transcrição como NF-kB. Este fator de transcrição vai induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias, a TNF- α e a IL-1 β e a IL-6, aumentando assim o nível das mesmas na mucosa. Outros eventos celulares não relacionados com o ADN ocorrem em simultâneo, acelerando assim, o dano na mucosa oral. ^(35,52,56)

A amplificação do sinal, a terceira fase, como podemos observar na Figura 2, é caracterizada pela acumulação de uma grande variedade de proteínas biologicamente ativas, nos tecidos alvo, na submucosa. Algumas destas proteínas, em particular, as citocinas pró-inflamatórias, não só provocam dano tecidual, como também desencadeiam um mecanismo de feedback positivo, de forma a amplificar o dano primário, iniciado pela RT ou pela QT. Como exemplo, temos a TNF- α cujo mecanismo de feedback positivo potencia a ativação do NF-kB, ativando a via de sinalização da proteína cinase ativada por mitógenos (MAPK). Por sua vez, é ativada a cinase c-Jun N-terminal (JNK), responsável pela regulação do fator de transcrição AP1, estimulador da secreção de metaloproteinases da matriz (MMPs). Finalmente, esta via irá resultar na ativação da caspase 3 e na morte celular. Como resposta à cadeia de eventos apoptóticos e necróticos provocados pela QT e/ou RT, a proliferação epitelial irá cessar e como resultado vai haver uma diminuição da espessura da mucosa. Posto isto, dá-se o início da quarta fase, a ulceração. A fase ulcerativa caracteriza-se por perda de integridade dos tecidos mucosos, desenvolvimento de colónias bacterianas orais e o

aparecimento das primeiras manifestações na cavidade oral. Os compostos produzidos pela parede celular bacteriana penetram na mucosa lesada, promovendo a ação dos macrófagos, o que irá levar a um aumento da quantidade de citocinas pró-inflamatórias no local. Este aumento promove a expressão de genes pré-apoptóticos, potenciando o dano celular. Esta perda de integridade da mucosa, resulta em lesões extremamente dolorosas para o paciente. No caso de pacientes neutropênicos, estas lesões na mucosa podem ser ainda mais complexas, na medida em que permitem a entrada de numerosos microrganismos que se encontram alojados na cavidade oral. De um modo geral, esta fase é a mais significativa, tanto para o paciente, como para os profissionais de saúde envolvidos no tratamento anti-neoplásico. ^(35,52,56)

A fase final, denominada de cicatrização, geralmente ocorre após o término da terapia anti-neoplásica, momento coincidente com a recuperação hematopoiética, com o restabelecimento do microbioma oral e com a ausência de fatores intervenientes na cicatrização, como infecções e irritação mecânica. A taxa de migração epitelial, proliferação e diferenciação celular, é controlada por sinais provenientes da matriz extracelular dos tecidos submucosos e mesenquimais. ^(35,52,56)

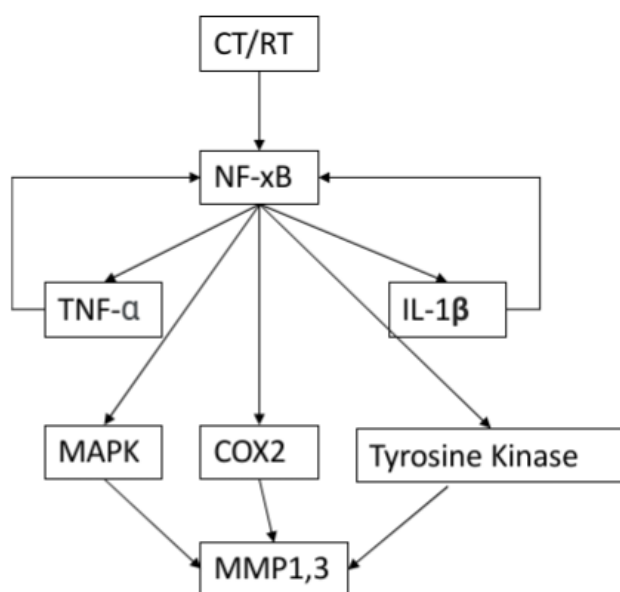


Figura 2- Amplificação do sinal numa mucosite. ⁽⁵⁶⁾

Aproximadamente 80% dos utentes pediátricos experienciam a MO com uma extensão e incidência diferentes, baseadas no tipo de cancro, procedimentos terapêuticos e o estado da cavidade oral do paciente ao longo do tratamento. ^(35,50)

A MO pode tornar-se um problema grave para o paciente oncológico e a sua prevalência parece ser significativamente maior em pacientes pediátricos. ⁽⁵³⁾ Esta patologia oral leva a um declínio da qualidade de vida, devido à dor extrema associada. ⁽⁵⁷⁾ Muitas vezes, a mucosite pode levar a uma inflamação da mucosa oral e gastrointestinal que, por sua vez, desenvolve úlceras dolorosas, infecções, dificuldade ou incapacidade em comer, beber ou mesmo deglutir. A MO severa pode ainda ser um problema de complexidade mais elevada, devido ao risco de comprometimento das vias aéreas. Devido a estas limitações associadas à MO, muitas vezes é necessária uma redução das doses de tratamento, levando a atrasos na terapêutica, de modo a evitar a progressão da mucosite. ^(53,57)

De modo a ser avaliada a gravidade da MO, a World Health Organization (WHO) criou uma escala em 1979 (sendo ainda utilizada nos dias de hoje), que permite classificar a mucosite e a sua gravidade em 4 níveis de 4 fases correspondentes. Cada fase é independente e está associada aos efeitos de QT e RT no epitélio oral. Podemos ver essa escala na Tabela 4 e exemplos clínicos nas Figuras 3 e 4. ^(53,58,20)

Tabela 6- Estados da mucosite oral segundo a World Health Organization. ⁽⁵⁹⁾

Graus	Descrição
0	Sem alterações na mucosa
1	dor/eritema
2	dor/eritema+ ulceração+ capaz de ingerir sólidos
3	dor/eritema+ ulceração+ capaz apenas de ingerir líquidos
4	Alimentação impossibilitada



Figura 3- Mucosite Oral, Grau 2. ⁽⁴³⁾ *



Figura 4- Mucosite Oral, Grau 3. ⁽⁴³⁾ *

*Imagens adaptadas do livro: Odontologia na oncologia pediátrica ⁽⁴³⁾

A probabilidade de uma criança com cancro experienciar a MO, durante o tratamento, tem vindo a aumentar significativamente, devido ao uso de dosagens mais altas e ao uso de múltiplos agentes quimioterápicos. O regime de tratamento, a presença de terapias concomitantes, as dosagens utilizadas, a duração e a sequência, o tipo de neoplasia, a idade, a contagem de neutrófilos e o nível de higiene oral, são fatores com uma grande influência na incidência da MO. Apesar de alguma controvérsia na literatura, face aos potenciais fatores de risco da MO, sabe-se que estes se dividem em fatores diretamente relacionados com o tratamento ou fatores de risco do paciente. Os principais fatores de risco do paciente incluem higiene oral deficiente, presença de condição aguda, disfunções nas glândulas salivares, desidratação, má nutrição e a presença de doenças sistémicas como a diabetes, entre outros como podemos observar de uma forma esquemática na Tabela 5. Regimes concomitantes de QT e RT, em que a dose cumulativa de radiação ultrapassa os 30 Gy, o risco de desenvolver MO é praticamente 100%, há uma grande alteração tecidual. ^(45,55,60,61)

Sabe-se também que a MO tem uma forte correlação genética. Para além destes fatores de risco, há determinados genes e polimorfismos genéticos, que estão fortemente associados à MO. Por exemplo os genes, *ERCC1*, *XRCC1* e *MTHFR* são os mais frequentemente estudados para a MO. Um estudo verificou que determinados genes como *TP53*, *CTNNB1*, *MYC*, *RBI*, *P38 MAPK* e *EP300* também têm um papel significativo no aparecimento da MO. O gene *ERCC1* pertence ao complexo de reparação de ADN por excisão dos nucleótidos e o gene *XRCC1* é responsável pela reparação de quebras simples nas cadeias de ADN. O gene *TP53* é um fator de transcrição e um gene supressor de tumores, por outro lado o gene *MTHFR* está envolvido no metabolismo do folato, que pode interferir na metilação e síntese do ADN. Outros exemplos são, o gene glutationa S-Transferase Mu 1 (*GSTM1*) e o gene glutationa S-transferase teta-1 (*GSTT1*). Deleções nestes genes resultam numa inibição da enzima glutationa S-transferase (responsável pela neutralização das ROS), potenciando um stress oxidativo. ^(51,52)

Tabela 7- Fatores de risco no desenvolvimento da mucosite oral. ⁽⁵⁵⁾

Relacionados com o tratamento	Relacionados com o paciente
Tipo de quimioterapia, em particular 5-FU metotrexato e etoposido	Tabaco
Altas doses e infusões contínuas, especialmente com fluorouracilo	Neutropenia
Tratamentos concomitantes com QT e RT	Idade
Radiação da cabeça e do pescoço	Estado nutricional
	Gênero
	Saúde oral e higiene
	Presença de prótese
	Índice corporal baixo
	Decréscimo da função renal
	Comorbilidades ex: diabetes
	Polimorfismos genéticos ou déficit na metabolização enzimática de fármacos
	Défice de vitamina B / ácido fólico
	Disfunção salivar
	Medicações concomitantes ex.
	Antidepressivos e anticolinérgicos que diminuem o fluxo salivar
	Níveis elevados de microflora oral
	História prévia de terapia anti-neoplásica
	Disfunções imunes ex: colite ulcerativa, artrite reumatóide, lupus, etc.
	Fatores epigenéticos

1.6.1 Prevenção e tratamento da mucosite oral

É fundamental durante a terapia anti-neoplásica, a implementação de medidas capazes de prevenir e reduzir a incidência e a gravidade da MO. A mucosite nem sempre se consegue evitar, a partir do momento em que a mesma é diagnosticada é importante que o profissional de saúde estabeleça uma terapia de suporte. Esta terapia passa pela manutenção da hidratação, redução da dor e a prevenção da infecção. A manutenção de uma higiene oral é uma parte muito importante na prevenção da mucosite, o paciente deve ser examinado pelo médico dentista e ser instruído sobre determinadas medidas de higiene oral específicas, como o uso de escovas com cerdas suaves. Deve evitar o consumo de alimentos quentes e picantes, bebidas alcoólicas e o tabaco, são hábitos cruciais na redução da incidência e gravidade da MO. A MO e a dor associada são inferiores em pacientes com um protocolo de higiene oral estabelecido, que inclui a escovagem dentária, bochechos com solução de gluconato de clorexidina a 0,12% ou 0,2% e solução salina a 0,9%, quando comparadas a

pacientes sem indicações específicas acerca da higiene oral e da sua importância. Uma variedade de agentes farmacológicos e não-farmacológicos têm vindo a ser usados para prevenção e tratamento da MO em pacientes pediátricos. ^(1,53,61)

O efeito profilático do gluconato de clorexidina na terapia anti-neoplásica deve-se ao efeito bactericida, sendo eficazes contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Contudo, a MASCC desaconselha o seu uso na prevenção da mucosite, em pacientes submetidos a radioterapia no tratamento de tumores sólidos da cabeça e do pescoço. De uma maneira geral, o gluconato de clorexidina oferece vantagens na prevenção e na redução da mucosite. A benzidamina, é um analgésico e anti-inflamatório não esteroide, também utilizado na prevenção da MO, atua como anestésico local e anti-inflamatório, sem qualquer tipo de atividade anti-microbiana. Estudos revelam, que ela tem a capacidade de diminuir a produção e o efeito das citocinas pró-inflamatórias, principalmente o TNF- α . A benzidamina revelou-se eficaz na prevenção da MO, em pacientes portadores de cancro da cabeça e do pescoço, sujeitos a RT. ^(34,40,45,53,61,62,)

A crioterapia tem vindo a ser usada na prevenção da MO, em pacientes submetidos a QT, com agentes de semi-vida curta, como injeções em bolus de 5-fluorouracilo e melfalano. Esta técnica envolve a aplicação de gelo picado dentro da cavidade oral, durante 30 minutos, o que irá causar vasoconstrição, reduzindo assim o fluxo sanguíneo na cavidade oral, o que irá levar a uma menor circulação do agente sistémico na cavidade oral. Contudo, esta medida profilática, não se revela eficaz em tratamentos com infusões contínuas e a cooperação do paciente pode estar afetada pela sua capacidade de tolerar a sensação desconfortável de conter gelo no interior da cavidade oral. ^(45,61,63)

A palifermina é um fator de crescimento dos queratinócitos recombinantes, estimula a proliferação, diferenciação e migração das células epiteliais ao longo do trato gastrointestinal, incluindo a cavidade oral. Tem a capacidade de estimular citocinas anti-inflamatórias como a interleucina-13, reduzindo assim os fatores de necrose tumoral, como o TNF- α , uma citocina pró-inflamatória que tem um papel fundamental na patogénese da mucosite. A dose regime consiste em 1mg/kg/dia durante três dias consecutivos, antes e depois da terapia anti-neoplásica. Estudos afirmam que a palifermina é eficaz na redução da gravidade e duração da MO. A palifermina atua na medula óssea, aumentando assim a produção de neutrófilos e a sua captação pelos tecidos. Este fator de crescimento parece ser eficaz na MO, contudo tem alguns efeitos adversos na pele e na cavidade oral, podendo causar eritema, parestesia e alterações do paladar. ^(53,61,62,63)

Durante grandes momentos de stress, incluindo o cancro, as reservas biológicas de glutamina, podem diminuir até mais de 50%, o que contribui para o desenvolvimento da MO. O uso de suplementos de glutamina, segundo estudos, regula o crescimento, a função e a regeneração do trato gastrointestinal, diminuindo assim a duração da mucosite. A glutamina é de fácil administração sem desconforto para o paciente e previne a evolução da mucosite para estágios mais avançados. ^(53,61)

O uso de laser de baixa potência (LLLT), tem um efeito anti-inflamatório e promove a cicatrização de determinadas lesões, sem qualquer efeito destrutivo tecidual. Como uso profilático o LLLT é muito eficaz na MO, em pacientes oncológicos e/ou sujeitos a transplantes de células hematopoiéticas. A luz emitida pelo laser, aumenta a síntese de DNA, RNA e o metabolismo celular, promove a angiogénese e estimula a produção de colagénio, serotonina e cortisol. Há diversos tipos de LLLT, como o laser diodo, radiação de infravermelhos entre outros. Estudos demonstraram uma redução da MO, da dor, e da disfagia, em pacientes sujeitos a terapias profiláticas com LLLT. O uso do LLLT diminui não só a incidência MO no paciente oncológico, mas também aumenta a qualidade de vida do mesmo. ^(40,61,62,64,65)

Em suma, é fundamental que o paciente oncológico durante a terapia anti-neoplásica, tenha uma higiene oral adequada e o devido acompanhamento profissional, de modo a prevenir o aparecimento da MO. O uso de gluconato de clorexidina mostrou-se eficaz na prevenção, não só da MO, mas também de outras infeções orais secundárias. O LLLT cada vez mais tem vindo a ser estudado e ainda que haja uma taxa de aplicação do mesmo baixa, apresenta vários benefícios na MO. ^(61,62,64)

A interrupção da terapia anti-neoplásica pode ser necessária em pacientes que desenvolvem MO severa, pois a continuação do tratamento poderá levar à perda permanente de células estaminais e a morbilidade devido ao tratamento. Contudo, é preciso ter em consideração que ao se interromper a terapia anti-neoplásica reduzimos o controlo local do tumor e a sobrevivência do paciente fica comprometida. É importante ter em consideração todos estes fatores, quando se pondera a interrupção do tratamento. O tratamento deve ser restabelecido o mais cedo possível, para que o intervalo seja o mínimo possível. ⁽⁶¹⁾

As alterações dietéticas são uma complicação da MO, de grande relevância clínica. A dor na cavidade oral, disgeusia e odinofagia, condicionam a ingestão por via oral dos pacientes. É necessário adequar a dieta de modo a manter uma nutrição adequada. A aplicação de anestésicos locais antes das refeições e optar por alimentos líquidos ou semi-líquidos pode ser útil em alguns pacientes. Por vezes na MO severa pode ser necessário recorrer a alimentação via enteral. ⁽⁶¹⁾

O controlo da dor na MO pode exigir o uso de analgésicos, consoante a evolução da MO, pode ou não ser necessário a administração de opióides. ⁽⁶¹⁾

A benzidamina também mostrou efeitos positivos no tratamento da MO, levando a uma redução dos sintomas associados à mucosite. O LLLT é também um meio de tratamento eficaz na MO, para além dos seus efeitos preventivos tem a capacidade de diminuir a dor, a gravidade e a duração dos sintomas associados à MO. ^(40,61)

Na Tabela 8, está representado um resumo dos agentes/fármacos utilizados para a prevenção e para o tratamento da MO, de benefício definido ou benefício questionável. Foi também realizada uma revisão pela MASCC, relativamente ao esquema terapêutico para a MO, como se pode observar na Tabela 9. ⁽⁶¹⁾

Tabela 8- Resumo dos agentes/fármacos usados na prevenção e tratamento da MO. ⁽⁶¹⁾

Agentes com benefício definido para a prevenção / tratamento da mucosite oral induzida por terapia anti-neoplásica

1. Bochechos de benzidamina para prevenir a MO, sem concomitância com a QT
2. LLLT (comprimento de onda: cerca de 632,8 nm) para prevenção da MO em pacientes sem concomitância com a QT
3. Bochechos com morfina a 2% podem ser eficazes no tratamento da dor associada à MO

Agentes com benefício questionável para a prevenção / tratamento da mucosite oral induzida por terapia anti-neoplásica

1. Bochecho com gluconato de cloroexidina para prevenir a MO
2. Bochechos de misoprotosol para prevenção da MO
3. Administração de pilocarpina oral para prevenção da MO
4. Administração de palifermina
5. Administração de suplementos sistémicos de zinco pode ser benéfico na prevenção de MO
6. Administração de glutamina para prevenção da MO

Tabela 9- Esquema terapêutico da MO. ⁽⁶¹⁾

Tratamento da MO

Interrupção da RT e recomeço o mais cedo possível
 Modificação do plano de tratamento da RT
 Gestão da dor
 Anestésicos locais
 Lavagem tópica - aspirina e doxepina
 Opióides
 Tratamento de infeções coexistentes / controlo de candidíase oral
 Bochechos com benzidamina
 GM-CSF $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{d}$ subcutâneo
 LLLT ($\lambda=632,8 \text{ nm}$)

1.7 Polimorfismos na mucosite oral

A MO é a principal complicação associada à terapia anti-neoplásica. Aproximadamente 100% dos pacientes submetidos a altas doses de QT e RT desenvolvem mucosite. No caso dos pacientes portadores de cancro da cabeça e do pescoço 60% a 80% desenvolve mucosite. ⁽⁵¹⁾

A terapia anti-neoplásica usada para o tratamento do cancro provoca dano no ADN, levando à formação de mucosite. As modalidades de tratamento do cancro, em especial a RT, provoca um stress oxidativo, através da produção de ROS, o que irá levar ao dano no ADN e posteriormente a morte celular. Na sua grande maioria, genes identificados na literatura como fundamentais interferem diretamente na reparação do ADN, na resposta ao dano oxidativo provocado no ADN ou agem como reguladores destes mecanismos. ⁽⁵¹⁾

A ocorrência de determinados polimorfismos nos genes intervenientes na reparação do ADN pode alterar a capacidade individual de reparação do ADN, afetando o destino das células depois de ocorrem danos no ADN. Dentro da mesma espécie, quando ocorrem variações na sequência do ADN, com uma frequência superior a 1% na população, denomina-se de polimorfismo genético (PG). No entanto, quando essa alteração é inferior a 1% designa-se mutação e geralmente resulta numa patologia. Contudo nem todas as mutações provocam patologia e alguns polimorfismos são funcionalmente importantes e têm vindo a ter implicações em algumas patologias, como a MO. Estes PG podem ser de várias formas: substituições de um único nucleótido (SNP), inserções e deleções, número variável de repetições na sequência e alterações estruturais ao nível do cromossoma, como se pode observar de uma maneira genérica na Tabela 10. Alguns polimorfismos genéticos podem manifestar-se clinicamente de variadas maneiras. Podem provocar um aumento ou diminuição da suscetibilidade a uma dada patologia, podem agravar uma patologia existente, ou ainda provocar alterações na resposta ao tratamento ou suscetibilidade aos efeitos adversos. ⁽⁶⁶⁾

Tabela 10 - Tipos de polimorfismos. ⁽⁶⁶⁾

Tipo de polimorfismo	Descrição
Substituição de um único nucleótido (SNP)	Substituição de um par de bases único numa sequência de nucleótidos
Inserção / Deleção	Inserção ou deleção de um ou mais nucleótidos na sequência de ADN
Número variável de repetições em tandem (micro / mini satélites)	Diferença no número de sequências repetidas
Translocação / Inversão	Alterações estruturais no cromossoma

Os genes *BRCA1*, *RBI* e *TP53* são genes reguladores e mediadores da resposta ao dano no ADN. O *RBI* tem a capacidade de se ligar diretamente aos componentes responsáveis pela reparação não homóloga de ADN. O *BRCA1* tem um papel importante em diversos mecanismos de reparação de ADN, tanto por interação com componentes envolvidos nas respetivas vias, como por regulação direta da expressão de genes envolvidos nas mesmas. São exemplos a reparação por excisão de nucleótidos, por união de extremidades não-homólogas e por recombinação homóloga. O *BRCA1* interage com o TP53 aumentando assim a transcrição da *CDKN1A*, esta transcrição é dependente da proteína p53. O gene *TP53* é um mediador chave nas vias de resposta ao dano provocado no ADN. A *CDKN1A* pára o ciclo celular na fase G1, havendo assim tempo suficiente para a reparação do ADN, protegendo a célula e evitando a apoptose. O *CTNNB1* é um componente do complexo de adesão celular no epitélio, cuja função é particularmente importante no contexto da mucosite, pela perda da integridade da mucosa. Esta molécula é o sinalizador principal na via de sinalização do WNT e como tal, tem funções importantes no crescimento celular e diferenciação durante a fase de reparação da mucosa. ⁽⁵¹⁾

Existe uma regulação recíproca entre o WNT e o *MYC*. O *MYC* participa na regulação da estabilidade genómica, podendo regular o destino de uma célula em que o ADN se encontre danificado. A via de sinalização da MAPK promove a sobrevivência e interage com o *MYC*. ⁽⁵¹⁾ O *MTHFR* é crucial na metilação do ADN, sendo responsável pela reparação tecidual, síntese enzimática e controlo da expressão proteica. Este gene codifica a enzima MTHFR, responsável pela conversão da molécula 5,10-metilenotetrahidrofolato na molécula 5-metiltetrahidrofolato, através da

qual o folato circula na corrente sanguínea. Esta enzima participa também na conversão de homocisteína em metionina. A metionina é um aminoácido, utilizado para a produção de proteínas.^(67,68)

A presença de determinados polimorfismos no gene *MTHFR* levam à redução da eficácia da enzima MTHFR, provocando a acumulação de homocisteína no sangue. Os polimorfismos mais frequentes neste gene são o C677T e A1298C, na maior parte dos casos não estão associados a patologias. Estes dois polimorfismos quando presentes aumentam o risco de desenvolver mucosite em pacientes submetidos a terapia anti-neoplásica, em particular a administração de metotrexato.^(32,67,68)

O gene *XRCC1* codifica a enzima XRCC1, que intervém na reparação do ADN na via de reparação por excisão de bases (BER), por quebras de cadeia única (SSB) e ainda por quebras de cadeia dupla (DSB). A ocorrência de SNP altera o perfil funcional da proteína e a sua capacidade individual de reparar o ADN danificado, desta forma a célula fica mais suscetível a sofrer um dano letal no ADN, que irá conduzir à primeira fase da MO, a iniciação. Uma das variantes alélicas mais comuns no *XRCC1* consiste numa substituição de uma adenina por uma guanina, na posição 1196, que resulta na troca do aminoácido na posição 399 de glutamina para arginina. Desta forma, a proteína ficará com a capacidade de reparação alterada, o que conseqüentemente irá provocar alterações na suscetibilidade à terapia anti-neoplásica. Para além disso, indivíduos com o genótipo AA do gene *XRCC1*, possuem um risco mais elevado de quebras de cromossomas, que outras células com outros genótipos.⁽⁶⁹⁾

A EP300 é uma histona acetiltransferase, responsável pela regulação epigenética da transcrição de genes, envolvidos na proliferação e diferenciação celular.⁽⁵¹⁾

Em suma, estes genes referidos anteriormente controlam o ciclo celular, a apoptose, a diferenciação celular, a reparação do ADN e a homeostasia celular. A atividade destes genes pode determinar a capacidade da mucosa normal de resistir ao dano do ADN ou a capacidade que o epitélio tem de se regenerar, após morte tecidual e disrupção. Conseqüentemente, é possível que variações genéticas nestas vias desempenhem um papel importante, na suscetibilidade do indivíduo aos efeitos adversos da terapia anti-neoplásica, incluindo a MO.⁽⁵¹⁾

2. Objetivos

O principal objetivo deste projeto foi identificar e avaliar polimorfismos genéticos que possam estar relacionados com determinados tumores e também com uma maior predisposição ou agravamento da mucosite oral, numa população pediátrica submetida a tratamento anti-neoplásico.

3. Materiais e Métodos

Procedeu-se a uma revisão narrativa, seguida de pesquisa e recolha de dados na base de dados *cBioPortal for Cancer Genomics* (<https://www.cbioportal.org/>, TARGET 2018) versão 3.3.2, durante o mês de Maio de 2020. A pesquisa foi feita de forma independente para os dois grupos de cancro mais prevalentes na população pediátrica, a leucemia linfóide aguda (LLA) e a leucemia mielóide aguda (LMA). Cada gene foi analisado separadamente, para cada tipo de cancro, de modo a identificar polimorfismos na população em estudo. Nesta análise foram incluídas todas as variantes genéticas encontradas nas amostras.

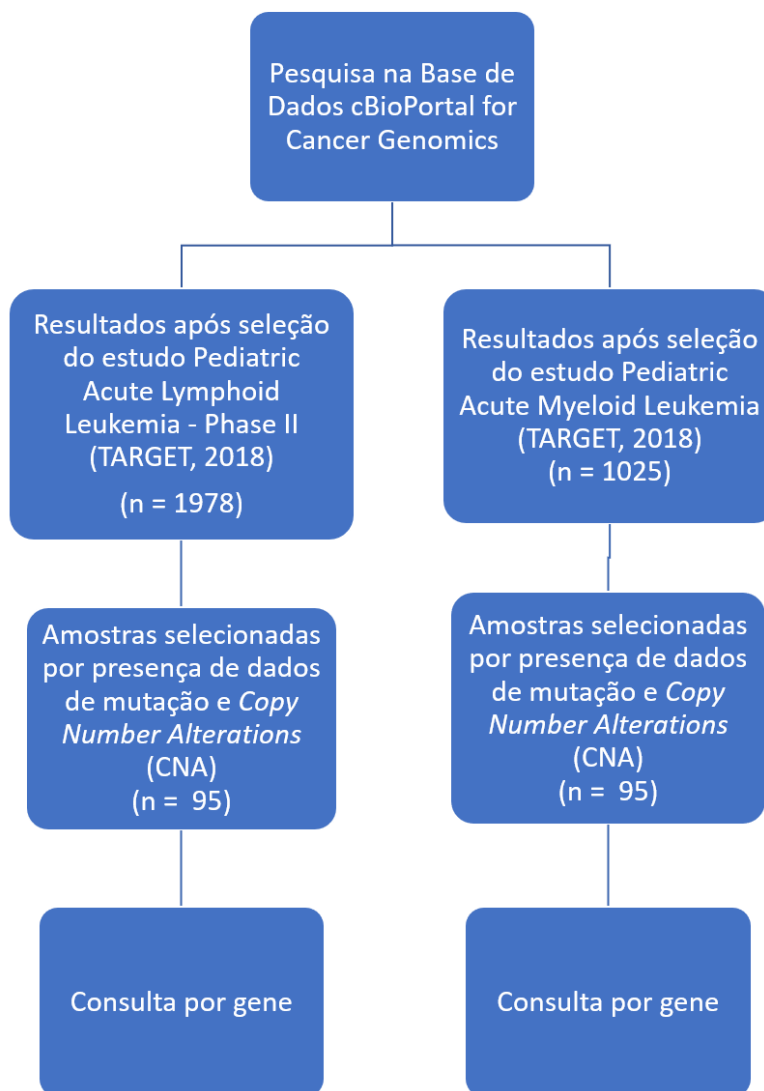


Figura 5- Fluxograma da pesquisa na base de dados *cBio Portal for Cancer Genomics*.

4. Resultados

Na base de dados, *cBioPortal for Cancer Genomics*, estão incluídos 1551 pacientes com tumores de origem linfóide dos quais foram recolhidas 1978 amostras. Desses 1551 pacientes pediátricos estão descritos 95 pacientes cujas amostras apresentavam polimorfismos. Nos Gráficos 1 e 2, observa-se a distribuição destes 95 pacientes com LLA, agrupados segundo o género e a população de origem.

Relativamente aos tumores de origem mielóide, na base de dados estão incluídos 899 pacientes dos quais foram recolhidas 1025 amostras. Desses 899 estão descritos 95 pacientes cujas amostras apresentavam polimorfismos. Nos Gráficos 3 e 4 observa-se a distribuição dos 95 pacientes com LMA, agrupados segundo o género e a população de origem.

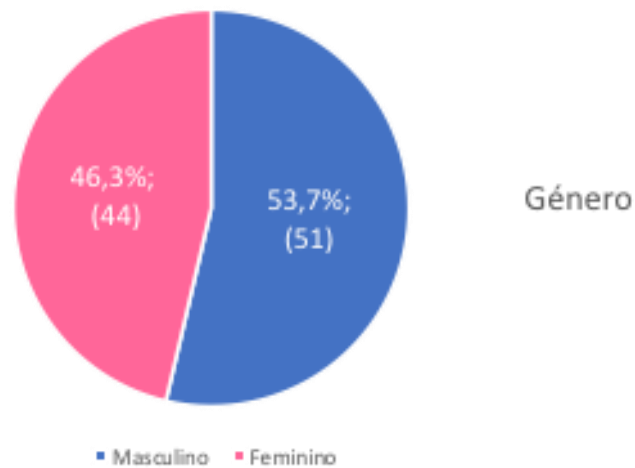


Gráfico 1 - Pacientes com LLA grupados por género.

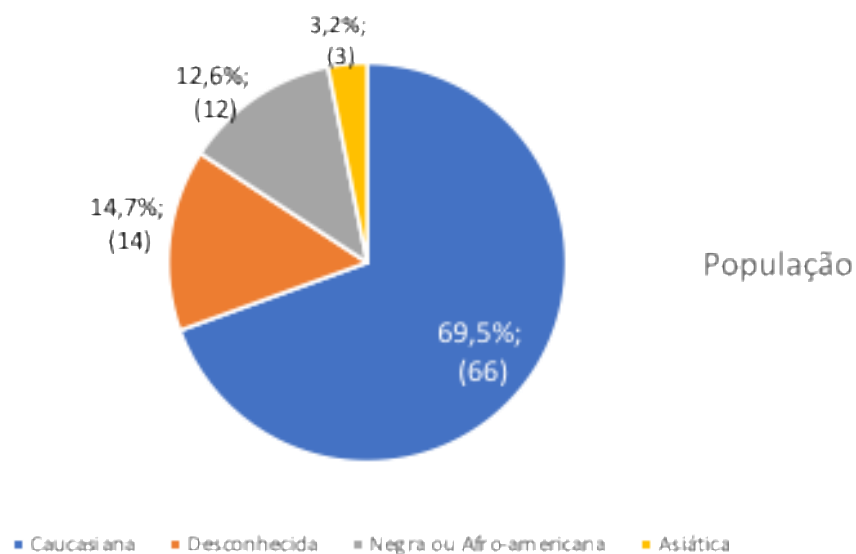
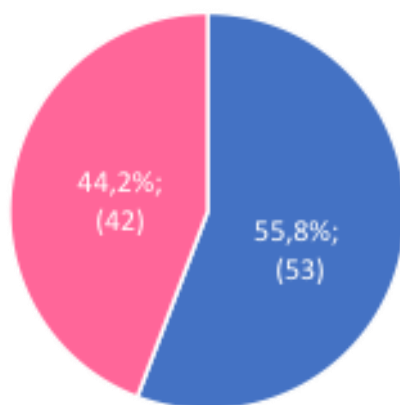


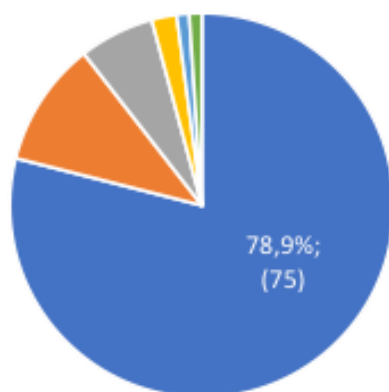
Gráfico 2 - Pacientes com LLA agrupados por população.



Gênero

■ Masculino ■ Feminino

Gráfico 3 - Pacientes com LMA agrupados por gênero.



População

■ Caucásiana ■ Negra ou Afro-americana ■ Desconhecida ■ Outros ■ Asiática ■ Nativa do Havai ou de outras ilhas do Pacífico

Gráfico 4 - Pacientes com LMA agrupados por população.

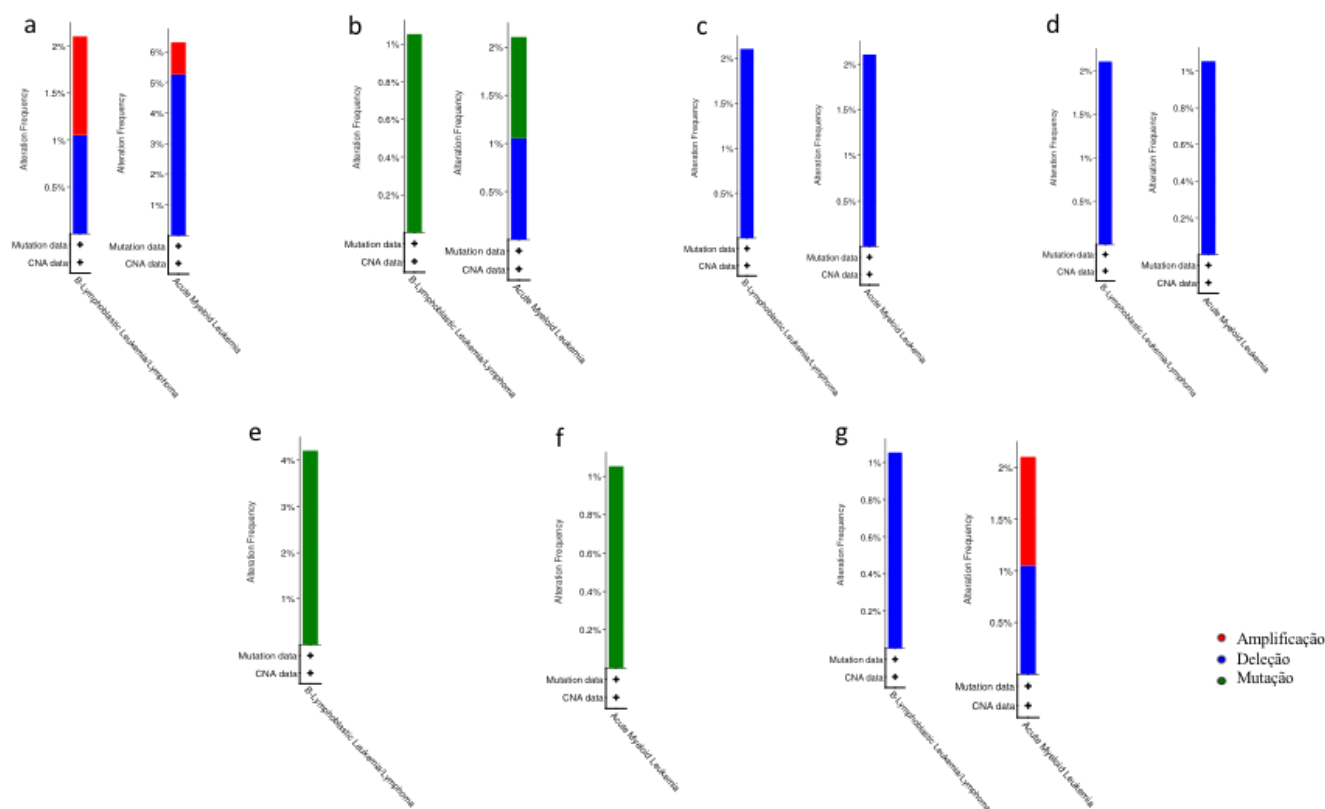


Figura 6- Frequência dos polimorfismos presentes nos genes em pacientes portadores de LLA e LMA: **(a) BRCA1 (b) EP300 (c) MAPK14, (d) CDKN1A (e) TP53 e (f) MYC (g) MTHFR.**

Tabela 11- Mutações presentes nos genes *TP53* e *EP300* em pacientes com LLA.

LLA					
Gene	Mudança de proteína	Tipo de mutação	Tipo de variação	Cromossoma	dbSNP*
<i>TP53</i>	R248Q	Missense	SNP	17	rs11540652
	R248Q	Missense	SNP	17	rs11540652
	R273P	Missense	SNP	17	rs28934576
	R158C	Missense	SNP	17	rs587780068
<i>EP300</i>	Y1414C	Missense	SNP	22	—

*código na base de dados do NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>

Tabela 12- Mutações presentes nos genes *MYC* e *EP300* em pacientes com LMA.

LMA					
Gene	Mudança de proteína	Tipo de mutação	Tipo de variação	Cromossoma	dbSNP
<i>MYC</i>	P74Q	Missense	SNP	8	—
<i>EP300</i>	C1164Y	Missense	SNP	22	—

Gene *BRCA1*

Na Figura 6, relativamente ao gene *BRCA1*, verificam-se *Copy Number Alterations* (CNA), nomeadamente deleções do tipo *HOMODEL* (17q21.31) e amplificações (17q21.31), com uma frequência 2,2%, num grupo de 95 pacientes com LLA. Observa-se também a presença CNA, nomeadamente deleções do tipo *HOMODEL* (17q21.31) e amplificações (17q21.31) com uma de frequência de 6,4%, numa amostra de 95 pacientes pediátricos com LMA. Sendo que a frequências das deleções é significativamente maior (5,3%).

Gene *EP300*

Na Figura 6, relativamente ao gene *EP300*, verifica-se uma mutação do tipo *missense*, com uma frequência de 1,1%, num grupo de 95 pacientes com LLA.

No caso dos tumores mielóides, observou-se na Figura 6, a presença de uma mutação do tipo *missense* e uma deleção do tipo *HOMODEL*, com uma frequência de 2,2%.

Nas Tabela 12 estão descritas as mutações do tipo *missense*, caracterizadas pela ocorrência de um SNP resultando numa mudança de proteína (Y1414C), num grupo de 95 pacientes com LLA.

Na Tabela 12 está representada a mutação encontrada do tipo *missense*, caracterizada pela ocorrência de um SNP, resultando numa mudança de proteína (C1164Y), num grupo de 95 pacientes com LMA.

Gene *MAPK14*

Na Figura 6, relativamente ao gene *MAPK14*, verificam-se CNA, nomeadamente deleções do tipo *HOMODEL*, com uma frequência de 2,1%, tanto no grupo de pacientes com LLA como LMA.

Gene *CDKN1A*

Na Figura 6, relativamente ao gene *CDKN1A*, observa-se CNA, nomeadamente deleções do tipo *HOMODEL* (6p21.2) com uma frequência de 2,1%, num grupo de 95 pacientes com LLA.

No caso das leucemias mielóides, verifica-se a presença de uma deleção, do tipo *HOMODEL* (6p21.2), com uma frequência de 1,1%, numa amostra de pacientes pediátricos com LMA.

Gene *TP53*

Relativamente ao gene *TP53*, estão representadas mutações do tipo *missense*, com uma frequência de 4,2%, num grupo de 95 pacientes com LLA. No caso de LMA, não se verifica a presença de polimorfismos no gene *TP53*.

Na Tabela 11 estão descritas as mutações encontradas do tipo *missense*, caracterizadas pela ocorrência de um SNP que resulta numa mudança ao nível da proteína (R248Q, R248Q, R273P e R158C).

Gene *MYC*

No que concerne ao gene *MYC*, não se verificou qualquer tipo de polimorfismo, num grupo de 95 pacientes pediátricos com LLA. Na Figura 6, observa-se a presença de mutações, do tipo *missense*, com a frequência de 1,1%, numa amostra de 95 pacientes pediátricos com LMA.

Na Tabela 12 estão descritas as mutações encontradas do tipo *missense*, caracterizadas pela ocorrência de um SNP que resulta numa mudança de proteína (P74Q).

Gene *MTHFR*

Na Figura 6, relativamente ao gene *MTHFR*, verificam-se CNA, nomeadamente deleções do tipo *HOMODEL*, com uma frequência 1,1%, num grupo de 95 pacientes com LLA.

No caso das leucemias mielóides, verifica-se a presença de uma deleção, do tipo *HOMODEL* e uma amplificação com uma frequência de 2,1%, numa amostra de pacientes pediátricos com LMA.

Gene *XRCC1*

Não se verificou nenhum polimorfismo no gene *XRCC1* nos pacientes pediátricos com LLA e LMA

5. Discussão

A base dados utilizada neste estudo, *cBioPortal for cancer genomics*, permitiu o acesso a um conjunto de dados provenientes do projeto *Therapeutically Applicable Research to Generate Effective Treatments* (TARGET). Os dados recolhidos neste projeto estão focados na população pediátrica com o objetivo de desenvolver tratamentos, testes de diagnóstico ou marcadores de prognóstico para o cancro pediátrico, por ser diferente no cancro nos adultos. Os dados obtidos no projeto TARGET podem também ser aplicados na investigação da biologia, causas, tratamento e complicações resultantes dos tratamentos do cancro pediátrico.

Na amostra de participantes incluídos neste estudo, com mutações nos genes selecionados e descritos acima, relativamente aos tumores de origem linfóide, verificou-se uma maioria de pacientes do sexo masculino com uma percentagem de 53,7%, e a população caucasiana foi a mais prevalente com uma percentagem de 69,5%. Relativamente aos tumores de origem mielóide, verificou-se uma maioria de pacientes do sexo masculino com uma percentagem de 55,8%, de origem caucasiana com uma percentagem de 78,9%. Para cada gene, verificou-se que o número de pacientes do sexo masculino era igual ou superior aos do sexo feminino, com exceção do gene *EP300*, tanto na LLA como na LMA, isto deve-se ao facto de inicialmente haver mais pacientes do sexo masculino, incluídos no estudo.

Foram encontradas três mutações, do tipo *missense*, no gene *TP53*, em pacientes com LLA, com uma frequência de 4,2%. Contrariamente a este tipo de tumores, na amostra de LMA não foi encontrado qualquer polimorfismo. Estas mutações do tipo *missense*, levam à mudança de um aminoácido, afetando a proteína codificada pelo gene em questão. O *TP53* foi um dos primeiros genes supressores de tumores a ser identificado em humanos e está localizado no braço curto do cromossoma 17. De acordo com o descrito na literatura, determinadas mutações no gene *TP53* estão associadas à formação de tumores, sendo as do tipo *missense* as mais comuns. ⁽⁷⁰⁻⁷²⁾

Segundo *Reyes-Gibby*, o gene *TP53* é um dos genes relacionados com o desenvolvimento da mucosite induzida por terapia anti-neoplásica, pois este gene tem um papel regulador e mediador da resposta ao dano provocado no ADN, ao estar mutado a sua função é comprometida. ⁽⁵¹⁾

No que diz respeito ao gene *CDKN1A*, foram encontradas neste estudo alterações do número de cópias, do tipo *HOMODEL*, no cromossoma 6, tanto nos pacientes pediátricos com LLA como nos pacientes como LMA, com frequências de 2,1% e 1,1%, respetivamente. Na literatura também foi encontrado um SNP no gene *CDKN1A* (S31R), associado a mucosite severa em pacientes adultos.

⁽⁷³⁾

No gene *MYC*, não se verificou nenhum polimorfismo, num grupo de 95 pacientes pediátricos com LLA. Contudo no grupo de 95 pacientes pediátricos com LMA, observa-se a presença de uma mutação do tipo *missense*, com uma frequência de 1,1% na população de estudo.

Relativamente ao gene *MAPK14*, verificam-se CNA, nomeadamente deleções do tipo *HOMODEL*, com uma frequência de 2,1%, tanto no grupo de pacientes com LLA como LMA.

No gene *BRCA1*, foram encontradas CNA, nomeadamente deleções e amplificações, no grupo de 95 pacientes com LLA, com uma frequência de 2,2%. No grupo dos 95 pacientes com LMA também se observaram deleções e amplificações com uma frequência de 6,4%, uma percentagem bastante superior quando comparada com a LLA.

Na literatura foi relatada a presença de SNP, no gene *BRCA1*, associado a mucosite grave em pacientes adultos. Este polimorfismo consiste numa substituição de uma guanina por uma adenina, que resulta na troca do aminoácido aspartato na posição 693 para asparagina (D693N).⁽⁷³⁾

Relativamente ao gene *EP300*, segundo os resultados, verificou-se apenas uma mutação do tipo *missense* com uma frequência de 1,1%, nos pacientes com LLA. Nos pacientes com LMA, observou-se uma mutação também do tipo *missense* e uma deleção do tipo *HOMODEL*, com uma frequência de 2,2%. No caso da mutação descrita no grupo de pacientes com LLA, o polimorfismo resulta na troca do aminoácido tirosina na posição 1414 para cisteína (Y1414C). Nos pacientes com LMA, o polimorfismo resulta na troca do aminoácido cisteína na posição 1164 para tirosina (C1164Y).

No presente estudo não se verificou a presença de nenhum polimorfismo no gene *XRCC1*.

Segundo *Pratesi et al*, os pacientes submetidos concomitantemente à QT e RT, apresentaram valores superiores para a taxa de mucosite. No subgrupo de pacientes tratados, apenas com RT ou QT e RT, verificou-se uma associação entre a presença da mutação 399 Gln, no gene *XRCC1* e uma elevada taxa de mucosite. Determinados polimorfismos no gene *XRCC1* alteram a sua função, modificando a sua expressão, aumentando assim a suscetibilidade das células à terapia anti-neoplásica, o que poderá estar associado à mucosite.⁽⁶⁹⁾

Na pesquisa realizada na base de dados, no que concerne ao gene *MTHFR* observou-se CNA, nomeadamente deleções, no grupo de 95 pacientes com LLA, com uma frequência de 1,1%. No grupo dos 95 pacientes com LMA, verificou-se a presença de deleções e amplificações com uma frequência de 2,1%.

De acordo com os resultados obtidos por *Mattia et al*, pacientes submetidos a QT com metotrexato e portadores de determinados polimorfismos apresentaram maior grau de suscetibilidade. No estudo, destacam-se dois SNPs do gene *MTHFR*:C677T (Ala222Val) e A1298C (Glu429Ala), referentes às alterações no ADN e na proteína, respetivamente. De acordo com os resultados, os

pacientes portadores dos genótipos 677TT e 1298CC possuem um risco mais elevado de desenvolver MO. ⁽³²⁾

A relação entre o metabolismo do metotrexato com a mucosite é algo controverso, alguns autores defendem que há uma relação devido a alta toxicidade do metotrexato. ⁽⁷⁴⁾ Outros autores, acreditam que a toxicidade provocada pelo metotrexato, não é primordial no desenvolvimento da MO. ⁽⁷⁵⁾

Dumontet et al, ao analisar os polimorfismos presentes nos casos associados a mucosite grave (grau 3 ou 4), constatou que ocorrem maioritariamente em genes envolvidos na reparação de ADN, em particular no *XRCCI*, *BRCA1* e *CDKN1A*. ⁽⁷³⁾

No entanto, nenhum dos resultados referidos foi realizado na população pediátrica, pelo que as conclusões poderão não ser idênticas.

6. Conclusão

Neste trabalho observou-se a presença de polimorfismos em determinados genes, coincidentes com os encontrados na base de dados, associados às leucemias mielóides e linfóides agudas numa população pediátrica. Após uma revisão da literatura podemos concluir que determinados genes, estão associados a uma suscetibilidade de desenvolver mucosite oral ou ao seu agravamento.

Sabe-se hoje que a mucosite oral tem uma etiologia complexa e com determinantes genéticos. É essencial a identificação de polimorfismos genéticos, que associados a uma terapia anti-neoplásica, levam ao aparecimento não só da mucosite oral, mas também de outras manifestações que afetam consideravelmente a qualidade de vida do paciente pediátrico. Na sequência deste estudo, podemos concluir, ainda que com algumas falhas inerentes ao estudo, que determinados polimorfismos em genes intervenientes no ciclo celular e síntese de ADN estão diretamente ou indiretamente associados ao aparecimento da mucosite oral. Determinar a variabilidade genética para a mucosite oral, no contexto de um determinado tumor e respetivo tratamento, possibilitará individualizar a terapia de prevenção e acompanhamento, traduzindo-se para a criança, numa redução nas complicações sistémicas e numa melhoria da sua qualidade de vida.

7. Limitações e perspectivas futuras

No presente estudo, verificou-se uma impossibilidade de recolha de amostras biológicas, devido à pandemia de Covid-19, o que levou a que o estudo fosse adaptado ao seu formato atual, em que se realizou uma revisão narrativa com uma pesquisa bioinformática.

A principal dificuldade encontrada neste trabalho foi o número reduzido de estudos sobre polimorfismos genéticos na população pediátrica, assim como de trabalhos que relacionassem, nesta faixa etária, mutações genéticas associadas ao cancro com o desenvolvimento da mucosite oral.

Os resultados obtidos neste estudo podem auxiliar a identificação de determinados polimorfismos, encontrados na população oncológica pediátrica. Alguns destes polimorfismos não só estão associados a determinados tumores, como LLA e LMA, como podem estar relacionados com o risco de desenvolver mucosite.

No futuro, espera-se poder realizar o trabalho inicialmente proposto, com recolha de amostras biológicas de uma amostra de crianças em tratamento oncológico. O que permitiria identificar e avaliar polimorfismos genéticos associados a uma maior predisposição para a mucosite oral. Este seria o primeiro passo para a estratificação destes pacientes e, assim, melhor prevenir e intervir quando a mucosite oral já está estabelecida.

8. Referências

1. International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory. Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. [Internet]. Genebra (CH). 2018. [acesso 9 mar 2020]. Disponível em: <http://www.who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf?ua=1>
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R, Torre L, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424.
3. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Dyba T, Randi G, Bettio M, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer*. 2018;1-32. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.07>.
4. National Cancer Institute (US). What is Cancer? [Internet]. Bethesda (MD). [consultado em 15 jan 2020]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
5. Kini R, Saha A, Naik V. Diffuse large B-cell lymphoma of mandible: a case report. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009;14(9):421-24.
6. Cross M, *Elements of Human Cancer*. Geoffrey M. Cooper, *The Quarterly Review of Biology* 68, no.3 (Sep., 1993): 472.
7. Instituto Nacional do Cancer (BR). [Internet]. Rio de Janeiro (RJ). [acesso 9 mar 2020]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/>
8. McMillan SC. Carcinogenesis. *Semin Oncol Nurs* [Internet]. 1992;8(1):10–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/074920819290004M>
9. Gale R. Cellular and molecular basis of cancer [Internet]. London (GB). 2018. [acesso 15 mar 2020]. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/en-pt/professional/hematology-and-oncology/overview-of-cancer/cellular-and-molecular-basis-of-cancer>
10. Strachan, T., 2004. *Human Molecular Genetics*. 4th ed. New York NY: Garland Science, pp.539 - 549.
11. Jemal A, Vineis P, Bray F, Torre L, Forman D. *The Cancer Atlas*. 2ª ed. Atlanta: American Cancer Society; 2014. Disponível em: <https://www.cancer.org/canceratlas>.
12. American Cancer Society. *Global Cancer Facts & Figures*. Atlanta: American Cancer Society; 2018.
13. Siegel R, Miller K, Jemal A. *Cancer Statistics, 2019*. CA: *Cancer J Clin*. 2019;69(1):7-34.
14. Roreno. *Registo Oncológico Nacional 2016*. Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil - EPE, Porto: Porto; 2016.

15. Merino M, Sánchez R. Aspectos odontoestomatólogicos en oncología infantil. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10:41-47.
16. Children with Cancer UK. Childhood Cancer Info [Internet]. Londres (UK): 2018. [acesso 31 jan 2020]. Disponível em: <https://www.childrenwithcancer.org.uk/childhood-cancer-info/>
17. Peres P, Queiroz AM de, Moreira MR, Faquim JP da S, Ferrari MACM. Odontopediatria aplicada ao Câncer Infantil – Manifestações Clínicas e Protocolo de Atendimento. *JMPHC | J Manag Prim Heal Care | ISSN 2179-6750*. 2014;4(3):199.
18. Ward E, DeSantis C, Robbins A, Kohler B, Jemal A. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin*. 2014;64(2):83-103.
19. Foucher E, Colombet M, Ries L, Moreno F, Dolya A, Bray F, et al. International incidence of childhood cancer, 2001-10: a population-based registry study. *Lancet Oncol*. 2017;18(6):719-31.
20. Padmini C, Bai KY. Oral and Dental Considerations in Pediatric Leukemic Patient. *ISRN Hematol*. 2014;2014(1):1–11.
21. Imbach P, Kuhne T, Arceci R. *Pediatric Oncology - A comprehensive Guide*. 2ª ed. Berlin: Springer; 2011.
22. Franch M, Esteve C, Pérez M. Oral manifestations and dental management of patient with leukocyte alterations. *J Clin Exp Dent*. 2011;3(1):53-59.
20. Bagy A, Silva DB, Seiben J, Winneshoffer APFF, Costa TEJB, Dacoregio JS, et al. Acute Lymphoblastic Leukemia in Infants: 20 years of Experience. *J Pediatr (Rio J)* 2013;89(1):649.
21. Deliverska EG, Krasteva A. Oral Signs of Leukemia and Dental Management– literature data and case report. *J IMAB - Annu Proceeding (Scientific Pap)*. 2013;19(4):388–91.
22. Giulietti A. Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2019. 1689–1699 .
23. Bagy A, Silva DB, Seiben J, Winneshoffer APFF, Costa TEJB, Dacoregio JS, et al. Acute Lymphoblastic Leukemia in Infants: 20 years of Experience. *J Pediatr (Rio J)* 2013;89(1):649.
24. Deliverska EG, Krasteva A. Oral Signs of Leukemia and Dental Management– literature data and case report. *J IMAB - Annu Proceeding (Scientific Pap)*. 2013;19(4):388–91.
25. Giulietti A. Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2019. 1689–1699 .
26. Rodrigues KE, Camargo B. Diagnóstico precoce do câncer infantil: responsabilidade de todos. *Rev Assoc Med Bras*. 2003;49(1):29-34
27. Paulino AC, Sim on JH, Zhen W, Wen BC. Long-term effects in children treated with radiotherapy for head and neck rhabdomyosarcoma. *Int. J. Radiat. Oncol Biol. Phys*. 2000; 48:1489-95.

28. Volpato LER, Silva TC, Oliveira TM, Sakai VT, Machado MAAM. Radiation therapy and chemotherapy-induced oral mucositis. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2007;73(4):562–8.
29. Makin G. Principles of Chemotherapy. *Paediatrics and Child Health*. 2013;24(4):161-65.
30. Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, Correia S, Oliveira PJ, Moreira MSS and PI. Doxorubicin: The Good, the Bad and the Ugly Effect [Internet]. Vol. 16, *Current Medicinal Chemistry*. 2009. p.3267–85.
31. Wong H. Oral complications and management strategies for patients undergoing cancer therapy. *Scientific World Journal*. 2014;2014:1-14.
32. De Mattia E, Toffoli G. C677T and A1298C MTHFR polymorphisms, a challenge for antifolate and fluoropyrimidine-based therapy personalisation. *Eur J Cancer* .
33. Ribeiro I, Valença A, Bonan P. *Odontologia na Oncologia Pediátrica*. João pessoa: Ideia; 2016.
34. Disease AS. the Pathobiology of. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 1989;56(1):45–51.
35. Al-Ansari S, Zecha JAEM, Barasch A, de Lange J, Rozema FR, Raber-Durlacher JE. Oral Mucositis Induced By Anticancer Therapies. *Curr Oral Heal Reports*. 2015;2(4):202–11.
36. Vrooman LM, Silverman LB. Treatment of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Prognostic Factors and Clinical Advances. *Curr Hematol Malig Rep* [Internet]. 2016;11(5):385–94.
37. National Cancer Institute (US). Preventing and treating oral complications before chemotherapy and radiation therapy begins [Internet]. Bethesda (MD). [consultado em 27 fev 2020]. Disponível em: [https:// www.cancer.gov/about-cancer/treatment/side-effects/mouth-throat/oral-complications](https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/side-effects/mouth-throat/oral-complications)
38. American Academy of Pediatric Dentistry. Guideline on Dental Management of Pediatric Patients Receiving Chemotherapy, Hematopoietic Cell Transplantation, and/or Radiation Therapy. 2015;37(6):298-306.
39. European Oral Care in Cancer Group. Oral Care Guidance and Support [Internet]. Mereside (UK). [acesso 22 abr 2020]. 1ª ed. Disponível em: www.eocc.co.uk/wp-content/uploads/2018/09/EOCC-English-Guidance.pdf
40. Lalla R., Bowen J, Barasch A, Elting L, Epstein J, Keefe D, et al. MASCC/ISOO Clinical Practice Guidelines for the Management of Mucositis Secondary to Cancer Therapy. *Cancer*. 2014; 120:145361.
41. Rogulj A, Brzak B, Boras V, Brailo V, Milenovic M. Oral complication of head and neck irradiation. *Libri Oncol*. 2017;45(2-3):89-93.
42. Ritwik P. Dental care for patients with childhood cancers. *Ochsner J*. 2018;18(4):351–7.
43. Lima I, Ribeiro A, Bonan P. *Odontologia na oncologia pediátrica*. 2016.40-67.
44. Mosel D, Bauer R, Lynch D, Hwang S. Oral complications in the treatment of cancer patients. *Oral Diseases*. 2011;17(6):550-59.

45. Allen G, Logan R, Gue S. Oral Manifestations of Cancer Treatment in Children: A Review of the Literature, *Clin J Oncol Nursing*. 2010;14(4):481-490.
46. Chaveli-López B. Oral toxicity produced by chemotherapy: A systematic review. *J Clin Exp Dent*. 2014;6(1):81-90.
47. Fischer D, Epstein B. Management of patients who have undergone head and neck cancer therapy. *Dent Clin N Am*. 2008;52(1):39-60.
48. Elad S, Zadik Y, Hewson I, et al. A systematic review of viral infections associated with oral involvement in cancer patients: a spotlight on Herpesviridea. *Support Care Cancer*. 2010;18: 993–1006.
49. Gawade P, Hudson M, Kaste S, Neglia J, Constine L, Robison L, et al. A systematic review of dental late effects in survivors of childhood cancer. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61(3):407-16.
50. Mazhari F, Shirazi AS, Shabzendehtar M. Management of oral mucositis in pediatric patients receiving cancer therapy: A systematic review and meta-analysis. *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66(3):1–9.
51. Reyes-Gibby CC, Melkonian SC, Wang J, et al. Identifying novel genes and biological processes relevant to the development of cancer therapy-induced mucositis: An informative gene network analysis. *PLoS One*. 2017;12(7):1-21.
52. Sonis ST. Oral mucositis. *Anticancer Drugs*. 2011;22(7):607-612.
53. Miller MM, Donald DV, Hagemann TM. Prevention and treatment of oral mucositis in children with cancer. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2012;17(4):340-350.
54. Bennett M. Pain management for chemotherapy-induced oral mucositis. *Nurs Child Young People*. 2016;28(10):25-29.
55. Oronsky B, Goyal S, Kim MM, et al. A Review of Clinical Radioprotection and Chemoprotection for Oral Mucositis. *Transl Oncol*. 2018;11(3):771-778.
56. Sonis ST. The pathobiology of mucositis. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(4):277-284.
57. Skinner R. Nephrotoxicity of cancer treatment in children. *Ped Health*. 2010;4(5):519–38.
58. Carreón-Burciaga RG, Castañeda-Castaneira E, González-González R, Molina-Frechero N, Gaona E, Bologna-Molina R. Severity of Oral Mucositis in Children following Chemotherapy and Radiotherapy and Its Implications at a Single Oncology Centre in Durango State, Mexico. *Int J Pediatr*. 2018; 2018:3252765.
59. World Health Organization. (1979). WHO Handbook for reporting results of cancer treatment. World Health Organization. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37200>
60. Cheng K, Chang A, Yuen M. Prevention of oral mucositis in paediatric patients treated with chemotherapy: a randomised crossover trial comparing two protocols of oral care. *Europ J of Cancer*. 2004;40(8):1208-16.

61. Mallick S, Benson R, Rath GK. Radiation induced oral mucositis: a review of current literature on prevention and management. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273(9):2285-2293.
62. Sasada I, Munerato M, Gregianin. Mucosite oral em crianças com câncer - revisão de literatura. *RFO UPF* [online]. 2013, vol.18, n.3, pp. 335-344.
63. Keefe DM, Schubert MM, Elting LS, et al. Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. *Cancer*. 2007;109(5):820-831.
64. Villa A, Sonis ST. Mucositis: pathobiology and management. *Curr Opin Oncol*. 2015;27(3):159-164.
65. Sung L, Robinson P, Treister N, et al. Guideline for the prevention of oral and oropharyngeal mucositis in children receiving treatment for cancer or undergoing haematopoietic stem cell transplantation. *BMJ Support Palliat Care*. 2017;7(1):7-16.
66. Balasubramanian SP, Cox A, Brown NJ, Reed MW. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. *Eur J Surg Oncol*. 2004;30(6):593-601.
67. Lucock M, Yates Z, Martin C, et al. Methylation diet and methyl group genetics in risk for adenomatous polyp occurrence. *BBA Clin*. 2015; 3:107-112.
68. Zhang XF, Liu T, Li Y, Li S. Association between MTHFR 677C/T and 1298A/C gene polymorphisms and breast cancer risk. *Genet Mol Res*. 2015;14(4):16425-16430.
69. Pratesi N, Mangoni M, Mancini I, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in the XRCC1 and RAD51 genes and clinical radiosensitivity in head and neck cancer. *Radiotherapy and Oncology: Journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2011 Jun;99(3):356-361.
70. Moura-Gallo CV, Simão T, Ribeiro FS, Andrada-Serpa MJ, Cardoso LEB, Mendonça GA e S. Mutações no gene TP53 em tumores malignos de mama: associação com fatores de risco e características clínico-patológicas, inclusive risco de óbito, em pacientes residentes no Rio de Janeiro. *Rev Bras Epidemiol*. 2004;7(2):167-75.
71. Bourdon JC. p53 and its isoforms in cancer. *Br J Cancer*. 2007;97(3):277-282.
72. Menendez D, Inga A, Resnick MA. The biological impact of the human master regulator p53 can be altered by mutations that change the spectrum and expression of its target genes. *Mol Cell Biol*. 2006;26(6):2297-2308.
73. Dumontet C, Landi S, Reiman T, et al. Genetic polymorphisms associated with outcome in multiple myeloma patients receiving high-dose melphalan. *Bone Marrow Transplant*. 2010;45(8):1316-1324.
74. Robien K, Schubert MM, Bruemmer B, Lloid ME, Potter JD, Ulrich CM. Predictors of oral mucositis in patients receiving hematopoietic cell transplants for chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol*. 2004;22(7):1268-1275.

75. Ruiz-Argüelles GJ, Coconi-Linares LN, Garcés-Eisele J, Reyes-Núñez V. Methotrexate-induced mucositis in acute leukemia patients is not associated with the MTHFR 677T allele in Mexico. *Hematology*. 2007;12(5):387-391.