

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA- ESTOMATOLOGIA**

**JÉSSICA BERTÉ VALER**

**MUCOSITE BUCAL EM PACIENTES ONCOLÓGICOS PEDIÁTRICOS  
SUBMETIDOS A ALTA DOSE DE METOTREXATO: PREVALÊNCIA, RELAÇÃO  
COM OUTRAS TOXICIDADES E ELIMINAÇÃO DO MTX**

**Porto Alegre  
2019**

JÉSSICA BERTÉ VALER

**MUCOSITE BUCAL EM PACIENTES ONCOLÓGICOS PEDIÁTRICOS  
SUBMETIDOS A ALTA DOSE DE METOTREXATO: PREVALÊNCIA, RELAÇÃO  
COM OUTRAS TOXICIDADES E ELIMINAÇÃO DO MTX**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito à obtenção do título de mestre em Odontologia.

Área de concentração: Clínica Odontológica- Estomatologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Manoela Domingues Martins

Porto Alegre

2019

### CIP - Catalogação na Publicação

Valer, Jéssica Berté  
MUCOSITE BUCAL EM PACIENTES ONCOLÓGICOS PEDIÁTRICOS  
SUBMETIDOS A ALTA DOSE DE METOTREXATO: PREVALÊNCIA,  
RELAÇÃO COM OUTRAS TOXICIDADES E ELIMINAÇÃO DO MTX /  
Jéssica Berté Valer. -- 2019.  
56 f.  
Orientadora: Manoela Domingues Martins.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa  
de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS,  
2019.

1. MUCOSITE BUCAL. 2. METOTREXATO. 3.  
QUIMIOTERAPIA. 4. TOXICIDADE BUCAL. 5. ONCOLOGIA  
PEDIÁTRICA. I. Martins, Manoela Domingues, orient.  
II. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

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

Aos pequenos pacientes e suas famílias, por nos permitirem participar e contribuir para sua luta, e mesmo em um momento delicado de suas vidas aceitaram participar do desenvolvimento desta pesquisa clínica, além de sempre nos receberem com um sorriso cheio de esperança.

Aos meus pacientes na ESF Moinhos e ESF Montanha que confiam em mim para cuidar de sua saúde bucal e oportunizam a mim uma troca diária de experiências e afeto.

Aos meus colegas e estagiários da UNIVATES/FUVATES, por compreender minha paixão e entusiasmo pelo conhecimento, permitindo minha ausência nos turnos de mestrado e especialização. Sou grata e prometo retribuir e transmitir o conhecimento adquirido.

Ao Programa de Pós Graduação em Odontologia da UFRGS, por permitir que eu construísse meu conhecimento em bases sólidas, em um programa de tanta excelência.

Aos meus professores da graduação, por sempre incentivarem a busca pelo constante conhecimento e aperfeiçoamento, e incentivarem todos seus alunos a superarem desafios.

Ao meu Paraninfo Renato De Marchi, que sempre ao me encontrar, além do seu caloroso abraço, proferia palavras de incentivo e importância do amor pelo próximo na nossa profissão.

Ao Vinicius Carrard que em 2015 possibilitou minha inserção na Estomatologia através da Extensão em Leucoplasia, e me fez encantar pela imensidão e importância dessa área da Odontologia.

Ao Marco Antonio Trevizani Martins, que permitiu que eu participasse do Ambulatório de Estomatologia do Hospital de Clínicas por duas inesquecíveis semanas, durante minha graduação, a base do meu conhecimento na Estomatologia clínica foi adquirida naquelas intensas manhãs de atendimento, tua empatia, alegria e carinho com os pacientes é exemplar.

Ao Lauro Gregianin, uma das bases para esse trabalho, não só eu, mas todas as famílias dos pacientes do 3º Leste do HCPA são extremamente gratos a ti, pelo teu conhecimento, carinho e atenção, obrigada por confiar e permitir que nos inseríssemos na tua equipe.

Ao nosso grupo de “Manoeletes”, uma equipe unida, comprometida e cheia de força de vontade; diferentes histórias, momentos e perspectivas, mas com o mesmo objetivo: produzir pesquisa de qualidade. Com certeza esse caminho foi mais tranquilo graças a vocês. Júlia e Bruna Só, obrigada por me auxiliarem nos momentos em que eu estive longe e precisei de parceiras, sou eternamente grata!

A Tuany Schmidt e Amanda de Farias, duas meninas de ouro, parceiras durante o desenvolvimento desta pesquisa. Vocês são incríveis atuando em pesquisa e clínica, espero que a nossa profissão traga muita alegrias e o universo retribua toda a dedicação de vocês com muito sucesso.

A Marina Curra, de colega de Monitoria a minha banca de Mestrado, me sinto muito honrada em ter tido a oportunidade de aprender contigo. És um grande exemplo de profissional, que inspira pela dedicação com os pacientes e com o ensino. Saibas que és uma das influenciadoras por eu ter entrado no mestrado e assim ajudou a guiar a construção da minha carreira. Levarei sempre o brilho no olho que tu transmites ao cuidar.

A Manoela Domingues Martins, minha amada orientadora, que acolhe a todos com tanto carinho, e comigo não foi diferente. Obrigada por oportunizar minha inserção e crescimento no mundo da pesquisa. Obrigada por me acolher na sua casa, por ser tão disponível, por realmente dividir a tua vida com teus alunos. Obrigada por compreender os meus momentos de angústia e o desafio de conciliar trabalho, mestrado e especialização. Levarei sempre comigo tua força, determinação e sensibilidade para ensinar. Teus méritos como professora e pesquisadora só refletem a mulher incrível que tu és!

Aos meus amigos e amigas por compreenderem minhas infinitas preocupações e crises de ansiedade para sair tudo como eu planejo (e que planejo até demais), agradeço por insistirem para eu sair no final de semana, pelos momentos de descontração, por me ouvirem e compartilharem suas vidas comigo. Obrigada pelos abraços, pelas risadas, pelas palavras de incentivo e carinho, vocês foram meu ponto de força e afago, me ensinando que a vida é feita de diversos ciclos, muitas vezes não correspondendo nossas expectativas ( e tá tudo bem...), e cada pessoa tem seu momento e seu jeito de viver.

Em especial as minhas “lindosas” exemplo de diversão e escuta, a Letícia e Marina que me faziam fugir da vida acadêmica e odontológica, ao José pela parceria e compartilhamento de experiências, a Caroline Cimadon meu exemplo de garra, a Amanda Lottermann por todo seu carinho, a Júlia Toniolo por dividir a intensa rotina da especialização. A família vai muito além de laços sanguíneos.

Ao Diônatas Delazeri, meu parceiro de vida, que esteve comigo durante quase toda graduação e sempre me incentivou a seguir na busca pelo conhecimento, ao mesmo tempo que incentivava a florescer o lado Jéssica que não era dentista e pesquisadora. Obrigada por compreender a minha intensa rotina (ou falta dela) e dividir a tua vida comigo. Obrigada por se responsabilizar por tarefas que deveríamos dividir, enquanto eu estive construindo esse ou

outros trabalhos. Obrigada por ser não só meu amor, mas uma das pessoas que mais torcem pelo meu sucesso. Agradeço também por compartilhar comigo a nossa companhia mais fofa, nossa dose de alegria diária, nosso cachorrinho D'ale. Mal sabíamos que não me permitir escrever no sofá, destruir minha mesa de estudos e dificultar a correria semanal, não seriam nada perto da tamanha alegria e carinho que tínhamos com a companhia dele.

Por fim, e o mais importante, a aqueles responsáveis pela minha criação. A meus avós que se preocupavam tanto em me ver crescer de longe, esse sucesso se deve a criação que deram a seus filhos. Aos meus tios, tias, primos e primas sempre acolhedores e amorosos, obrigada por tudo! Aos meus afilhados Laura e Thomas por induzirem o meu amadurecimento ao cuidar e me fazerem acreditar em uma geração de amor.

A Jeniffer, que teve que se adaptar e compreender toda a mudança dentro destes 2 anos, e que me orgulha por também estar seguindo o caminho desafiador de trabalhar com pesquisa científica. Sou grata por estar comigo em todos os momentos que mais precisei!

Ao meu pai, por ser exemplo de força de vontade, por ser incansável na busca de um futuro melhor para nossa família, sem medir esforços e sem hesitar. Prometo te orgulhar e tentar retribuir todas as madrugadas mal dormidas e as infinitas horas trabalhadas para me dar o melhor, se cheguei até aqui é pela tua luta diária.

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

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

Antoine de Saint-Exupéry

## RESUMO

VALER, Jéssica Berté. **MUCOSITE BUCAL EM PACIENTES ONCOLÓGICOS PEDIÁTRICOS SUBMETIDOS A ALTA DOSE DE METOTREXATO: PREVALÊNCIA, RELAÇÃO COM OUTRAS TOXICIDADES E ELIMINAÇÃO DO MTX.** 2019. Dissertação (Pós-graduação em Clínica Odontológica com ênfase em Estomatologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

O metotrexato (MTX) é um quimioterápico amplamente utilizado no tratamento do câncer infantil e a mucosite bucal (MB) é um dos seus principais efeitos adversos. O objetivo deste estudo foi avaliar a relação do desenvolvimento da MO com o tempo de depuração do MTX, toxicidade renal e hepática em pacientes oncológicos pediátricos que receberam altas doses de metotrexato (AD-MTX). Foram acompanhados oitenta e três pacientes infantis (de 0 a 18 anos) submetidos à quimioterapia com AD-MTX ( $> 1 \text{ g} / \text{m}^2$ ) em tratamento para leucemia, osteossarcoma ou linfoma. Informações sobre o nível sérico de MTX (excreção de MTX) foram obtidas a cada 24 horas após a infusão deste, até atingir o nível sérico de  $0,2 \mu\text{M}$ . Amostras de sangue foram coletadas para avaliação das análises da função hepática e renal durante cada ciclo do MTX. A MB foi avaliada diariamente de D1 a D15 usando a escala da OMS em cada ciclo. Os pacientes totalizaram 255 ciclos de quimioterapia com infusão de AD-MTX. MB foi diagnosticada em 191 (74,9%) dos ciclos de quimioterapia. Destes, 119 (46,6%) apresentaram lesões ulceradas (graus 2, 3 e 4). Não foi encontrada associação entre a excreção tardia do MTX e o desenvolvimento de MB. Pacientes com linfoma foram associados a graus severos de MO ( $p = 0,01$ ) e nestes pacientes, a MO apresentou associação com a elevação dos níveis de aspartato aminotransferase ( $p = 0,006$ ), alanina aminotransferase ( $p = 0,04$ ) e creatinina ( $p = 0,008$ ). A regressão de Poisson demonstrou que pacientes o aumento em uma unidade de bilirrubina total leva um aumento da prevalência de MB em 11%. O aumento em uma unidade de bilirrubina indireta aumenta a prevalência de MB em 39%. Em pacientes com linfoma o aumento de uma unidade de creatinina induziu prevalência 37% maior de MB. Conclusão: A MB é uma complicação prevalente em pacientes com câncer infantil submetidos ao AD-MTX, principalmente em pacientes com linfoma. O tempo de depuração de AD-MTX não apresentou relação com MB. No entanto, a toxicidade renal e hepática podem ser consideradas fatores de risco para MB, principalmente em pacientes com linfoma. Estratégias preventivas para MB devem ser utilizadas nestes pacientes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Mucosite bucal. Metotrexato. Oncologia pediátrica. Quimioterapia. Toxicidade bucal



## ABSTRACT

Valer, Jéssica Berté. **Oral mucositis in childhood cancer patients receiving high-dose of methotrexate: prevalence, relationship with other toxicities and MTX elimination.** 2019. Dissertação (Pós-graduação em Clínica Odontológica com ênfase em Estomatologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

Methotrexate (MTX) is chemotherapeutic agents largely used in the treatment of childhood cancer, and, oral mucositis (OM) is one of the main adverse effects. The aim of this study was to evaluate the relationship of development of OM with MTX metabolism time, renal and hepatic toxicity in childhood cancer patients receiving high-dose of methotrexate (HD-MTX). Eighty-three childhood patients (aged 0 to 18 years) submitted to high-dose methotrexate therapy (HD-MTX) ( $> 1\text{g} / \text{m}^2$ ) in some chemotherapy cycle for the treatment of leukemia, osteosarcoma and lymphoma were evaluated. Information regarding of MTX serum level (MTX excretion) were obtained in each 24h after MTX infusion until the MTX serum level of  $0.2\mu\text{M}$ . Blood samples were collected for evaluation of *liver* and renal function analyzes during each MTX cycle. OM was daily evaluated from D1 to D15 using WHO scale in each cycle. The patients totalized 255 cycles of chemotherapy with HD-MTX infusion. OM were diagnosed in 191 (74.9%) of chemotherapy cycles. Of these, 119 (46.6%) presented ulcerative lesions (grades 2, 3 and 4). No association was found between delayed excretion of MTX and OM development. Lymphoma patients were associated with severe grades of OM ( $p=0.01$ ) and OM was associated to higher levels of aspartate aminotransferase ( $p=0,006$ ), alanine aminotransferase ( $p=0,04$ ) and creatinine ( $p=0,008$ ). Poisson regression demonstrated that patients with increase of one unit of total bilirubin have 11% higher prevalence of OM. The increase in one unit of indirect bilirubin increase the prevalence of OM in 39%. Patients with lymphoma that presented one unit of creatinine level had 37% higher prevalence of OM. Conclusion: OM is a prevalent complication of childhood cancer patients submitted to HD-MTX, especially in lymphoma patients. HD-MTX clearance time was not related to OM. However, renal and hepatic toxicity could be considered risk factors for OM, especially in patients with lymphoma. Preventive strategies for OM should be planned for these patients

KEY WORDS: Oral mucositis. Methotrexate. Pediatric Oncology. Chemotherapy. Oral toxicity

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Lista de Ilustrações da Introdução

<b>Figura 1.</b> Estimativa de incidência de câncer, por diagnóstico, em ambos os sexos, de 0-19 anos.....	13
<b>Figura 2.</b> Vias de metabolização do MTX e seus transportadores.....	16
<b>Figura 3.</b> Concentrações ideais de MTX e influência do pH.....	17
<b>Figura 4.</b> Patobiologia da MB em cinco estágios.....	20

## LISTA DE TABELAS

### Lista de Tabelas do Artigo

<b>Table 1.</b> Patients demographic characteristics and time of infusion according to the base disease.....	31
<b>Table 2.</b> Comparison of marker means between diseases.....	32
<b>Table 3.</b> Comparison of OM episodes in different diseases.....	32
<b>Table 4.</b> Excretion time of MTX cycles and the OM analysis in different diseases.....	33
<b>Table 5.</b> Analysis of relationship of OM with renal and liver function in different diseases.....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

### Lista de abreviaturas e siglas da Introdução

MB	Mucosite Bucal
INCA	Instituto Nacional de Câncer
OMS	Organização Mundial da Saúde
SNC	Sistema nervoso central
FBM	Fotobiomodulação
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
AD-MTX	Metotrexato em altas doses
GLOBOCAN	Global Cancer Observatory
NCI	National Cancer Institute
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group
IL-6	Interleucina 6
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral $\alpha$
MASCC	Multinational Association of Supportive Care in Cancer

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	12
2 OBJETIVOS .....	21
2.1 OBJETIVO GERAL .....	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
3 ARTIGO CIENTÍFICO .....	22
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	44
REFERÊNCIAS.....	46
APÊNDICE 1- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	51
APÊNDICE 2- CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA HCPA.....	54

## 1 INTRODUÇÃO

As neoplasias da infância, embora representem somente de 2 a 3% de todos os cânceres, com incidência estimada de 272 603 novos casos para o ano de 2018 (Figura 1), segundo a International Agency for Research on Cancer (IARC) sendo a principal causa de mortalidade infantil em países desenvolvidos. Além disso, estima-se que no Brasil para cada ano do biênio 2018-2019, ocorrerão 12 500 casos novos de câncer infanto-juvenil (0-19 anos), atingindo cerca de uma a cada 6.000 crianças no Brasil (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2018)

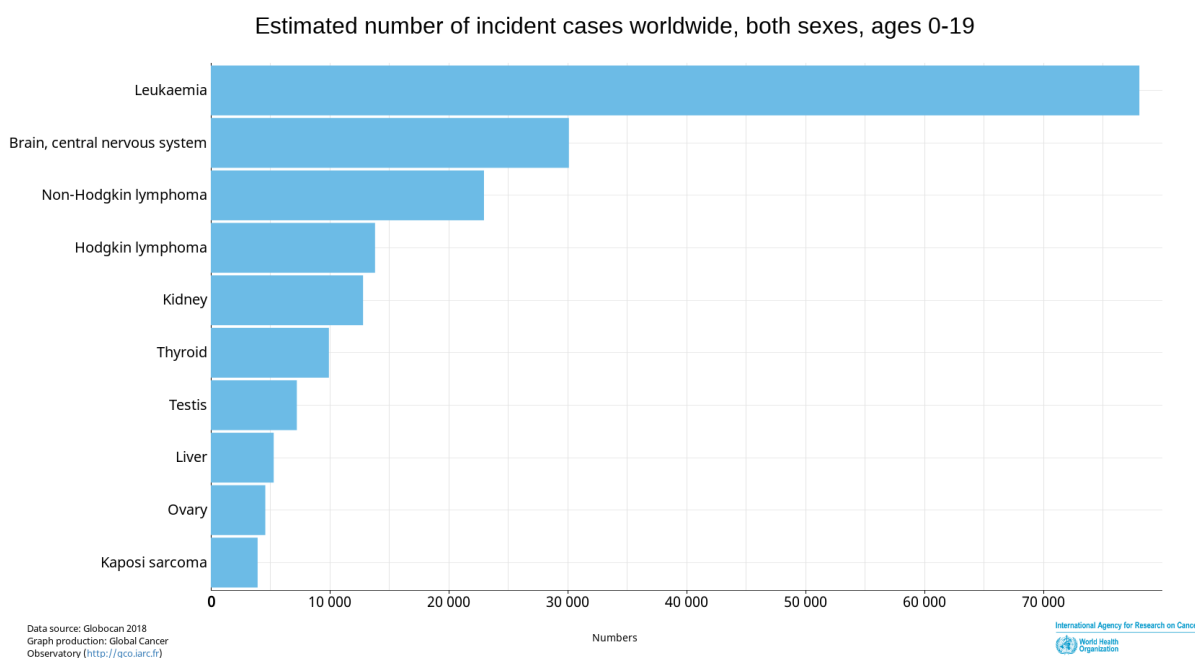


Figura 1. Incidência estimada de câncer infanto-juvenil (0 a 19 anos) no mundo, em ambos os sexos, para o ano de 2018.

Fonte: Globocan 2018. Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>).  
© International Agency for Research on Cancer 2018

Os tumores pediátricos tem origem principalmente de células embrionárias primitivas que crescem e se multiplicam rapidamente sendo os tipos mais comuns leucemias, tumores do sistema nervoso central, linfomas, tumores sólidos abdominais (Tumor de Wilms e neuroblastoma), osteossarcoma e rabiomiossarcoma (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2018; SILVA et al., 2015). Segundo o INCA na sua estimativa de incidência publicada em 2018, o Brasil apresentou uma incidência semelhante a maioria das populações, as leucemias foram as mais

frequentes (26%), seguidas de outros tumores epiteliais (14%), linfomas (14%) e tumores do sistema nervoso central (13%). Apesar de serem doenças raras, o câncer infantil ainda é considerado uma das principais causas de morte em crianças e adolescentes, sendo a segunda maior causa de morte em todas as regiões do Brasil. (BRASIL, 2017). Desta forma, a busca por formas de tratamento adequadas para essas doenças tem sido foco de inúmeras pesquisas.

As principais modalidades terapêuticas para o tratamento do câncer infantil são a cirurgia, radioterapia e quimioterapia podendo ser utilizados de forma isolada ou combinada. (HOUGHTON; KURMASHEVA, 2019; ZHANG et al., 2018) Dentre elas, a quimioterapia é o principal elemento do tratamento para o câncer infantil. Este tratamento tem como mecanismo fundamental a inibição não-seletiva da proliferação celular, isto porque a maior parte dos alvos moleculares, sobre os quais os quimioterápicos atuam estão também presentes em células não-tumorais, fazendo com que estes agentes apresentem baixa ou nenhuma seletividade (HOUGHTON; KURMASHEVA, 2019; VERA-LLONCH et al., 2007; SONIS, 2004). Estes fármacos exibem, de modo geral, estreitas janelas terapêuticas e, portanto, as diferenças entre as doses que produzem o efeito antitumoral e as que causam toxicidade são bastante pequenas. Assim sendo, a quimioterapia tem sido associada a uma série de efeitos adversos que podem levar à modificação ou interrupção do tratamento antineoplásico, resultando na redução de qualidade de vida e/ou sobrevida do paciente. Estes efeitos adversos incluem vômito, diarreia, toxicidade hepática e renal, dermatites, mucosite bucal (MB) e mielossupressão (YAROM et al., 2019; HOWARD et al., 2016; CHENG et al., 2007). Esta toxicidade vem incentivando o aprimoramento da quimioterapia para que se possa ter um aumento da distância entre a dose de resposta e a dose que causa severa toxicidade.

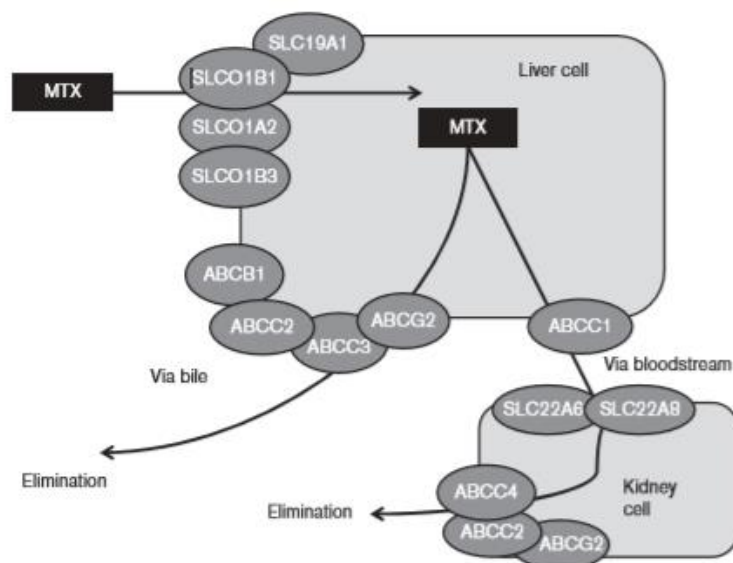
O Metotrexato (MTX) é um dos quimioterápicos utilizados no tratamento dos diferentes tipos de neoplasias infantis e atua interferindo no receptor do ácido fólico, agindo na fase S do ciclo celular, bloqueando a síntese de DNA e atuando bioquimicamente nas células que crescem de forma exponencial (YAO et al., 2018; PARK; SHIN, 2016; HOWARD et al., 2016). O MTX em altas doses (AD-MTX) é definido como qualquer dose maior de 1 g/m<sup>2</sup> (KU; BAZARGAN; TAM, 2019; HOWARD et al., 2016), sendo um componente essencial dos protocolos utilizados no tratamento de leucemia, linfoma e osteossarcoma. Além do seu grande potencial anti-

tumoral. AD-MTX é conhecido por causar diversos efeitos colaterais, incluindo toxicidade do sistema nervoso central (SNC), fígado, rim, medula óssea, sistema gastrointestinal e mucosa bucal, o que induz maior morbidade e pode causar atraso no tratamento (KAWAKTSU et al., 2019; CAMPBELL et al., 2016; PARK;SHIN, 2016).

O MTX após a sua absorção, é metabolizado pelo fígado em nível intracelular dando origem a três principais metabólitos: o ácido 4- amino-4-desoxi-N10-metilpteróico (DAMPA), 7-hidroximetotrexato (7-OH-MTX) e MTX-poliglutamato. Dentre esses, os poliglutamatos podem se retidos nos tecidos e contribuir para a ação farmacológica ou tóxica as células até 48h após a exposição ao MTX (LELES,2008). Durante o armazenamento nas células hepáticas, o MTX pode causar um estresse oxidativo nesse tecido, podendo ter sua eliminação atrasada; acredita-se que esse seja um dos motivos pelo qual esse quimioterápico acabe induzindo um aumento significativo dos marcadores de função hepática, mas isso não está muito bem elucidado.

A depuração do MTX (*clearance*) ocorre principalmente por excreção renal por filtração glomerular ou secreção tubular ativa (Figura 2) (LOPEZ-LOPEZ et al., 2013). Na administração endovenosa, 80% a 90% da dose administrada é excretada sem modificação na urina num período de 24h. Apenas 10% do MTX é excretado pelas vias biliares via circulação êntero-hepática (GARCIA PUIG, 2012). A depuração renal pode ser alterada devido à precipitação do MTX e seus metabólitos nos túbulos renais, que podem causar obstrução e diminuição da depuração renal, prolongando os altos níveis de MTX na corrente sanguínea, podendo levar a descontinuação ou redução da quimioterapia, além de causar diversos efeitos colaterais já citados (YAO et al., 2018; LIU et al., 2017; CAMPBELL et al., 2016). Sendo assim faz-se necessário monitoramento dessas enzimas circulantes para controle do paciente, sendo mais comum o acompanhamento de Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST) e bilirrubina (BB) para verificação da função hepática e para demonstrar a toxicidade renal são utilizadas creatinina e uréia (CAMPBELL et al., 2016; HAGAG et al., 2016; MOGHODAM et al., 2015; PIOTO, 2007). Um aumento significativo nessas enzimas demonstra danos a estes órgãos, o que pode resultar em uma metabolização mais lenta dos medicamentos, fazendo que permaneçam mais tempo na corrente sanguínea.





Methotrexate (MTX) transport pathway. MTX transporters are encircled.



Figura 2. Vias de metabolização do MTX, e transportadores responsáveis pela atuação em cada um dos órgãos representados: fígado, rins e bile.

Fonte: Lopez-Lopez et al., 2013.

Medidas de suporte e prevenção são adotadas para prevenir estas possíveis toxicidades, como o uso de hiper-hidratação, resgate com Leucovorina (ácido folínico), ou uso de bicarbonato para diminuir precipitação renal, mesmo com diversas medidas de suporte a disfunção renal se desenvolve em cerca de 2 a 12% dos pacientes (VAISHNAY et al., 2018).

A hiper-hidratação alcalina tem indicação de ser realizada ao menos 6 horas antes da infusão de AD-MTX. O fluido mais comumente utilizado trata-se de uma solução de cloreto de sódio 0,45%, dextrose a 5% associado a bicarbonato de sódio 7,5% e cloreto de potássio 20 mmol/h. Após a infusão do MTX a hidratação deve ser continuada até os níveis de MTX reduzirem aos níveis esperados em 24, 42 e 48 horas. (VAISHNAVI et al., 2019; PLARD et al., 2007)

Além disto o monitoramento dos níveis de MTX no organismo a cada 24 h também é utilizado como guia para controle e intensificação das medidas de suporte, tendo como base uma curva de acompanhamento (Figura 3), justificando ou demonstrando a necessidade de manter ou aumentar o uso do ácido folínico. A depuração do MTX pode ser alterada por condições ou medicações relacionadas a função renal, normalmente a depuração total acontece 100 mL/min/m<sup>2</sup> para pacientes pediátricos, sendo recomendado o acompanhamento dos níveis circulantes no sangue

em 24,42 e 48h após a infusão, ou até que estes níveis sejam considerados não tóxicos.(VAISHNAVI et al., 2019; HOWARD et al., 2016 LELES, 2008; PLARD et al., 2007)

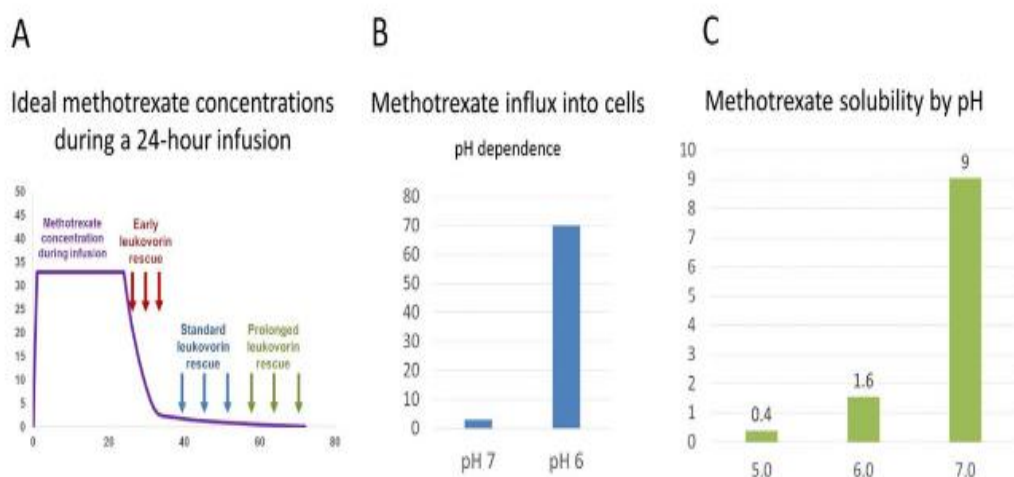


Figura 3: A-Concentrações ideais do MTX durante o período de 24h, demonstrando também o período de resgate de ácido fólico (leucovorin) que pode ser o precoce (antes das 42h do início de uma infusão de 24h - vermelho), que reduz a exposição ao MTX e resgate prolongado (verde) que é necessário quando a toxicidade induz uma eliminação tardia do MTX. Esta figura também mostra em B que o MTX entra nas células renais 23 vezes mais rápido quando o paciente apresenta pH6 comparado ao pH7, demonstrando que a urina ácida evidencia o acúmulo de MTX nos túbulos renais, diminuindo a solubilidade, demonstrado na figura C.

Fonte: Davidson; Howard , 2018.

O resgate com Leucovorina visa “resgatar” as células que tiveram lesionadas i pelo uso de AD-MTX, atuando como um desintoxicante (VAISHNAVI et al., 2018; COHEN; WOLF, 2014; WENNERSTRANDETAL., 2013). O ICicLe recomenda o uso de três doses de Leucovorina, iniciando 42h após uma infusão de 24h, por exemplo, o que varia conforme o tempo de infusão do MTX. O resgate precoce do ácido fólico afeta claramente a eficácia do medicamento e compromete a eficácia do quimioterápico. A continuidade de uso de Leucovorina é avaliada com base no pH da urina e nos níveis de creatinina que devem ser monitorados concomitantemente aos níveis séricos de MTX (DAVIDSON; HOWARD, 2018; VAISHNAVI et al., 2018). A seletividade deste regime ainda não é totalmente compreendida (VAN DER BEEK et al., 2019), porém é utilizado com uma das bases para reduzir um dos mais importantes efeitos colaterais do uso de AD-MTX , a MB.

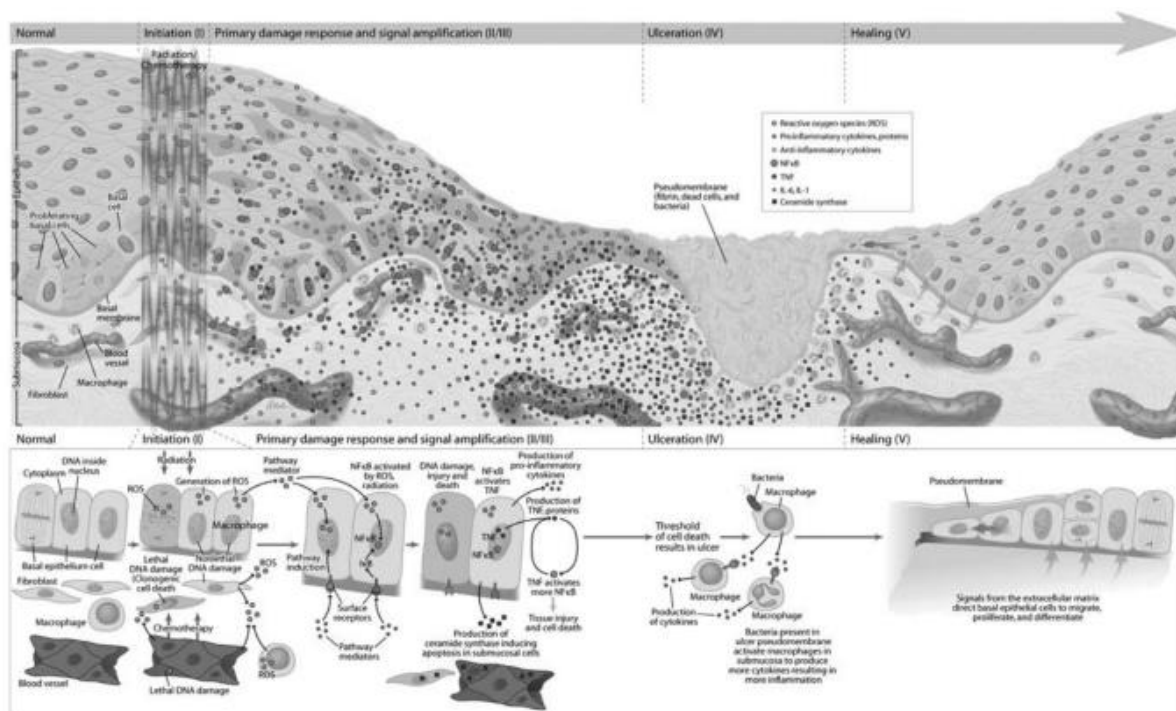
A MB tem sido considerada um dos efeitos adversos mais debilitantes observados em pacientes realizando quimioterapia com MTX em altas doses ( $>1 \text{ g/m}^2$ ) (KU; BAZARGAN; TAM, 2019; HOWARD et al., 2016). A manifestação costuma ocorrer de 3 a 10 dias após a quimioterapia ser iniciada (MAHZARI; SHIRAZI; SHABZENDEHDAR, 2018; LIU et al., 2017; VILLA; SONIS, 2015), afetando cerca de 33 a 80% dos pacientes pediátricos realizando tratamento com quimioterapia (ALLEN et al., 2018; GOBBO et al., 2017; CHAVELI LOPEZ et al., 2014), o que pode variar de acordo com a metodologia dos estudos analisados, que podem ou não incluir protocolos preventivos, e também a modalidade quimioterápica analisada, assim como as drogas incluídas nos protocolos (HONG et al., 2019; BACHOUR; SONIS, 2018; CHAVELI LOPEZ et al., 2014) .

Clinicamente, a MB se manifesta como eritema ou ulcerações que podem ser exacerbadas por fatores locais (ARIYAWARDANA et al., 2019; SILVA, et al., 2015; VILLA; SONIS, 2015; SONIS, 2011). O aparecimento dessas lesões costuma causar desconforto e dificuldade de alimentação em graus mais leves e em graus mais severos: dor intensa, necessidade de nutrição parenteral, diminuição da dose utilizada de quimioterápico, prolongar dias de hospitalização e até interromper o tratamento (ARIYAWARDANA et al., 2019; ELAD; ZADIK; YAROM, 2017; BERTOLINI et al., 2017; CHAUDHRY et al., 2015 ; VERA-LLONCH et al., 2007). Além disso, devido ao rompimento da mucosa e a quebra das defesas do organismo, a MB pode facilitar a invasão microbiana resultando em infecções oportunistas (ARIYAWARDANA et al., 2019; ZAKARIA, 2017; MILLER et al., 2012; SONIS, 2011). Diversas escalas para avaliação das manifestações clínicas da MB são descritas na literatura, sendo as mais utilizadas a da Organização Mundial da Saúde (OMS), a do National Cancer Institute (NCI) e a do Radiation Therapy Oncology Group (RTOG).

Os mecanismos exatos através dos quais as drogas quimioterápicas citotóxicas provocam a MB não foram completamente elucidados (VILLA; SONIS, 2015). A patogênese da MB é caracterizada por uma cascata de eventos biológicos influenciada pela microbiota oral e fatores ambientais (SONIS, 2011; SONIS, 2009).

O desenvolvimento da MB pode ser resumido em cinco fases: iniciação, resposta ao dano/ativação, amplificação do sinal, ulceração e reparo (SONIS, 2013; VILLA; SONIS, 2015) (Figura 4). Os agentes quimioterápicos ou a radioterapia induzem a geração de espécies reativas de oxigênio, causando apoptose das células

da camada basal, o que caracteriza a fase de iniciação, as células afetadas liberam moléculas endógenas padrão que se ligam a receptores específicos e desencadeiam a segunda fase de resposta ao dano. Assim, é ativada uma resposta imune inata que desencadeia a ativação de ao menos 14 vias canônicas, tendo destaque a via do NF-Kb, levando a expressão de até 200 genes, que estão associados a produção de citocinas pró-inflamatórias e moléculas que podem afetar ou alterar a resposta tecidual, como IL-6 e TNF- $\alpha$  e essa ativação também pode levar a morte celular causando a ulceração (VILLA; SONIS, 2015; SONIS, 2011). Nesta etapa temos os sinais e sintomas evidentes, o paciente se torna mais propenso a infecções por bactérias que colonizam as úlceras e liberam moléculas que agravam a lesão por macrófagos que liberam citocinas pró-inflamatórias. A última etapa é quando ocorre a cicatrização e reconstituição epitelial (VILLA; SONIS, 2015; SONIS, 2011).



A multiple mechanism model for the pathobiology of mucositis. The pathobiology of mucositis as a five-stage process. The key biological processes associated with the pathogenesis of oral mucositis can be arbitrarily divided into five stages: initiation, primary damage response (messaging and signaling), amplification, ulceration, and healing. Reproduced with permission [22]. IL, interleukin; NF-κB, nuclear factor-κB; ROS, reactive oxygen species; TNF, tumor necrosis factor.

Figura 4: Modelo de múltiplos mecanismos desencadeados na patobiologia da MB, em um processo de cinco estágios: iniciação, resposta ao dano primário (mensagens e sinalização), amplificação, ulceração e cicatrização.

Fonte: Sonis, 2011

Alguns fatores têm sido apontados como responsáveis por aumentar o risco de incidência de MB. Dentre eles, estão: tipo de tratamento a que o paciente é submetido (WELLSTEIN, 2018; SURESH et al., 2016; CHAVELI LOPEZ et al., 2014); saúde bucal prévia ao tratamento antineoplásico (SURESH ET al., 2016; KHAW et al., 2014; RECOLONS et al., 2006); idade do paciente (DEVAJARU et al., 2009; PICO et al., 1998); além de marcadores de imunidade local como mediadores inflamatórios e de imunossupressão (SURESH et al., 2016; PATUSSI et al., 2014; AL-DASOOQI et al., 2013).

Existem diversos tratamentos utilizados para prevenir ou tratar a MB, segundo as diretrizes da *Multinational Association of Supportive Care in Cancer (MASCC)* entre os principais cuidados estão incluídos protocolos de higiene oral, orientação para o auto cuidado dos pacientes (HONG et al., 2019), fotobiomodulação (FBM) (ZADIK et al., 2019), modificadores de resposta biológica como a palifermina, agentes anti-inflamatórios como a benzidamina (ARIYAWARDANA et al., 2019), agentes

citoprotetores como a glutamina (YAROM et al., 2019), porém as evidências existentes ainda são recentes e não deixam totalmente claro a eficácia em todo e qualquer paciente oncológico.(HONG et al., 2019; ARIYAWARDANA et al., 2019 MAHZARI; SHIRAZI; SHABZENDEHDAR, 2018; CHAVELI-LOPEZ, 2016).

Atualmente o que vem mostrando maior eficácia na prevenção e tratamento das lesões de MB é o uso da FBM. Na FBM luzes não ionizantes ativam cromóforos endógenos que provocam efeitos fotofísicos e fotoquímicos envolvendo diversos processos biológicos com resultados terapêuticos clínicos positivos, promovendo cicatrização, regeneração e respostas imunes, mediando inflamação e dor (ZADIK et al., 2019; de FREITAS et al., 2016). Quando se trata da população pediátrica o seu uso é ainda mais indicado por se tratar de uma terapia atraumática, não invasiva, sem efeitos colaterais e bem aceita pelas crianças, promovendo analgesia e conforto para os pacientes (NOIRRIT-ESCLASSAN et al., 2019; ZADIK et al., 2019)

Além desses fatores, alguns autores associam variabilidade na incidência de MB à variação na expressão de genes relacionados ao metabolismo de fármacos (LIU et al., 2017; MARTINS; WAGNER; LINDEN, 2013; LEE; MCLEOD, 2011). Estudos sobre farmacogenética em oncologia tem focado na linha dos polimorfismos gênicos envolvidos no metabolismo dos quimioterápicos que são mais utilizados na prática clínica e demonstram maior quantidade e severidade de efeitos adversos (LIU et al., 2017; MARTINS; WAGNER; LINDEN, 2013). Estes polimorfismos nos genes que codificam e transportam o MTX podem influenciar no tempo de eliminação do MTX, em maior tempo de hospitalização, mielosupressão e no desenvolvimento de MB (YAO et al., 2018; LIU et al., 2017; SERRA; HATTINGER, 2016; LOPEZ-LOPEZ et al., 2013).

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

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a relação do desenvolvimento de MB com o tempo de depuração do MTX, toxicidade renal e hepática em pacientes oncológicos pediátricos submetidos a tratamento com AD-MTX.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar a incidência de MB e sua relação com as doenças de base.

Analisar a incidência de graus ulcerados e severos de MB em pacientes pediátricos com leucemia, osteossarcoma e linfoma.

Avaliar níveis de BB (total, direta e indireta), ALT, AST, creatinina e uréia e sua relação com leucemia, osteossarcoma e linfoma.

Analisar a incidência de MB e sua relação com toxicidade hepática através de níveis de BB, ALT E AST em pacientes oncopediátricos.

Analisar a incidência de MB e sua relação com toxicidade renal através de níveis de creatinina e uréia em pacientes oncopediátricos.

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

### 3 ARTIGO CIENTÍFICO

O presente artigo, intitulado “**Oral mucositis in childhood cancer patients receiving high-dose of methotrexate: prevalence, relationship with other toxicities and MTX elimination.**” será formatado de acordo com as normas do periódico: Pediatric Blood & Cancer ISSN: 1545-5017 (Online), Fator de Impacto 2.486 e Qualis A3, ao qual será submetido.



**Oral mucositis in childhood cancer patients receiving high dose of methotrexate: prevalence, relationship with other toxicities and MTX elimination.**

Jéssica Berté Valer <sup>1</sup>, Amanda de Farias Gabriel <sup>1</sup>, Tuany Rafaeli Schmidt <sup>1</sup>, Maria Beatriz Cardoso Ferreira<sup>2</sup>, Mario Correa Evangelista Junior<sup>3</sup>, Marco Antonio Trevizani Martins<sup>1,4</sup>, Manoela Domingues Martins<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>2</sup> Full Professor of Pharmacology, Invited Professor, Department of Conservative Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

<sup>3</sup> Department of Pediatric Oncology, Porto Alegre Clinicas Hospital (HCPA/UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>4</sup> Department of Oral Medicine, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA/UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

**Corresponding author:**

Manoela Domingues Martins  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Odontologia  
Rua Ramiro Barcelos, 2492, sala 503  
CEP: 90035-003  
Santana, Porto Alegre RS  
Brazil  
Phone: 55-51-33085011  
manomartins@gmail.com

## ABSTRACT

**Background:** Methotrexate (MTX) is chemotherapeutic agents largely used in the treatment of childhood cancer, and, oral mucositis (OM) is one of the main adverse effects. The aim of this study was to evaluate the relationship of development of OM with MTX metabolism time, renal and hepatic toxicity in childhood cancer patients receiving high-dose of methotrexate (HD-MTX) for the treatment of leukemia, osteosarcoma and lymphoma.

**Design:** Eighty-three childhood patients (aged 0 to 18 years) submitted to high-dose methotrexate therapy (HD-MTX) ( $> 1\text{g} / \text{m}^2$ ) in some chemotherapy cycle for the treatment of leukemia, osteosarcoma and lymphoma were evaluated. Information regarding of MTX serum level (MTX excretion) were obtained in each 24h after MTX infusion until the MTX serum level of  $0.2\mu\text{M}$ . Blood samples were collected for evaluation of *liver* and renal function analyzes during each MTX cycle. OM was daily evaluated from D1 to D15 using WHO scale in each cycle.

**Results:** The patients totalized 255 cycles of chemotherapy with HD-MTX infusion. OM were diagnosed in 191 (74.9%) of chemotherapy cycles using HD-MTX. Of these, 119 (46.6%) presented ulcerative lesions (grades 2, 3 and 4). No association was found between delayed excretion of MTX and OM development. Lymphoma patients were associated with severe grades of OM ( $p=0.01$ ) and OM was associated to higher aspartate aminotransferase ( $p=0,006$ ) alanine aminotransferase ( $p=0,04$ ) and creatinine ( $p=0,008$ ) values. Poisson regression demonstrated that patients with increase of one unit of total bilirubin have 11% higher prevalence of OM. The increase in one unit of indirect bilirubin increase the prevalence of OM in 39%. Patients with lymphoma that presented one unit of creatinine level had 37% higher prevalence of OM.

**Conclusion:** OM is a prevalent complication of childhood cancer patients submitted to HD-MTX, especially in lymphoma patients. HD-MTX clearance time was not related to OM. However, renal and hepatic toxicity could be considered risk factors for OM, especially in patients with lymphoma. Preventive strategies for OM should be planned for these patients

## 1 | INTRODUCTION

Cancer incidence in childhood varies among countries worldwide. Its incidence in children aged 0–14 years is around 140.6 per million person-years, and in 0–19 years is approximately 155.8 per million person-years, representing 2 to 3% of all cancers.<sup>1-3</sup> The most common types of tumors that affect these group of patients are leukemias, central nerve tumors, tumors of abdomen, lymphomas, osteosarcoma and rhabdomyosarcoma.<sup>2,3</sup> Despite dramatic improvements in therapeutics and early detection, cancer still being the second major cause of infant mortality in developed countries. In Brazil, 12.500 new cases per year are diagnose with cancer every year and about 2.704 children die from cancer.<sup>3</sup> The treatment of childhood cancer involves multimodality therapy (surgery, radiotherapy, and systemic therapy using cytotoxic agents) which have been resulting in dramatic increases in patient's survival rates. Treatment is generally adjusted for stage of disease or risk-factors, with more aggressive regimens being used with advanced or metastatic disease.<sup>4,5</sup> Chemotherapy protocols generally have narrow therapeutic window, making the difference between the antitumor doses and those causing the toxicity are very low.<sup>6-8</sup>

Methotrexate (MTX) has been widely used as an anticancer agent in most chemotherapy protocols in childhood cancer. MTX acts on the S phase of the cell cycle, interfering with the folic acid receptor, blocking DNA synthesis.<sup>8-11</sup> Despite its clinical success, several adverse effects and toxicities such as skin, oral, hepatic and renal toxicity continue to challenge its use in clinical practices.<sup>11-13</sup>

Oral mucositis (OM) is considered one of the most debilitating adverse effects of chemotherapy, including the use of MTX. Approximately 80% of childhood cancer patients will experience OM to a certain extent varying according to cancer type and treatment procedure.<sup>11,14,15</sup> OM represents an inflammatory reaction of oral mucosa that clinically appears as an erythema or painful ulcerative condition. It starts 3 to 10 days after the chemotherapy infusion<sup>11,16</sup>. Severe forms of OM causes shortcomings in eating and swallowing, increase rates of secondary infection and impact patient's on quality of life. In addition, OM can lead to reduction of chemotherapy dose, treatment delays, prolong hospital stays and increase mortality.<sup>11,14</sup> The main risk factor for OM development included: type of treatment, previous oral health status, age,

inflammatory mediators level and also especially for MTX, the variation in the expression of genes that encode enzymes responsible for its metabolism, transport and excretion.<sup>13, 17-19</sup> Although the OM is considered an important side effect of MTX treatment, the exact mechanisms involved in the development of this condition and their association with the MTX metabolism is not clear in the literature. Therefore, the main aim of the present study was to evaluate the relationship of OM development with MTX metabolism time (MTX excretion) and hepatic and renal toxicity in childhood cancer patients submitted to high-dose methotrexate therapy (HD-MTX).

## **2 | MATERIALS AND METHODS**

The present prospective cohort study was conducted at Pediatric Oncology Service (Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil) followed the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: Guideline for Reporting *cohort studies*.<sup>20</sup> In addition, received approval from the Institutional Human Research Ethics Committee (HCPA protocol 16-0608). Patients and/or their legal guardian signed an informed consent.

### **2.1 | Study population**

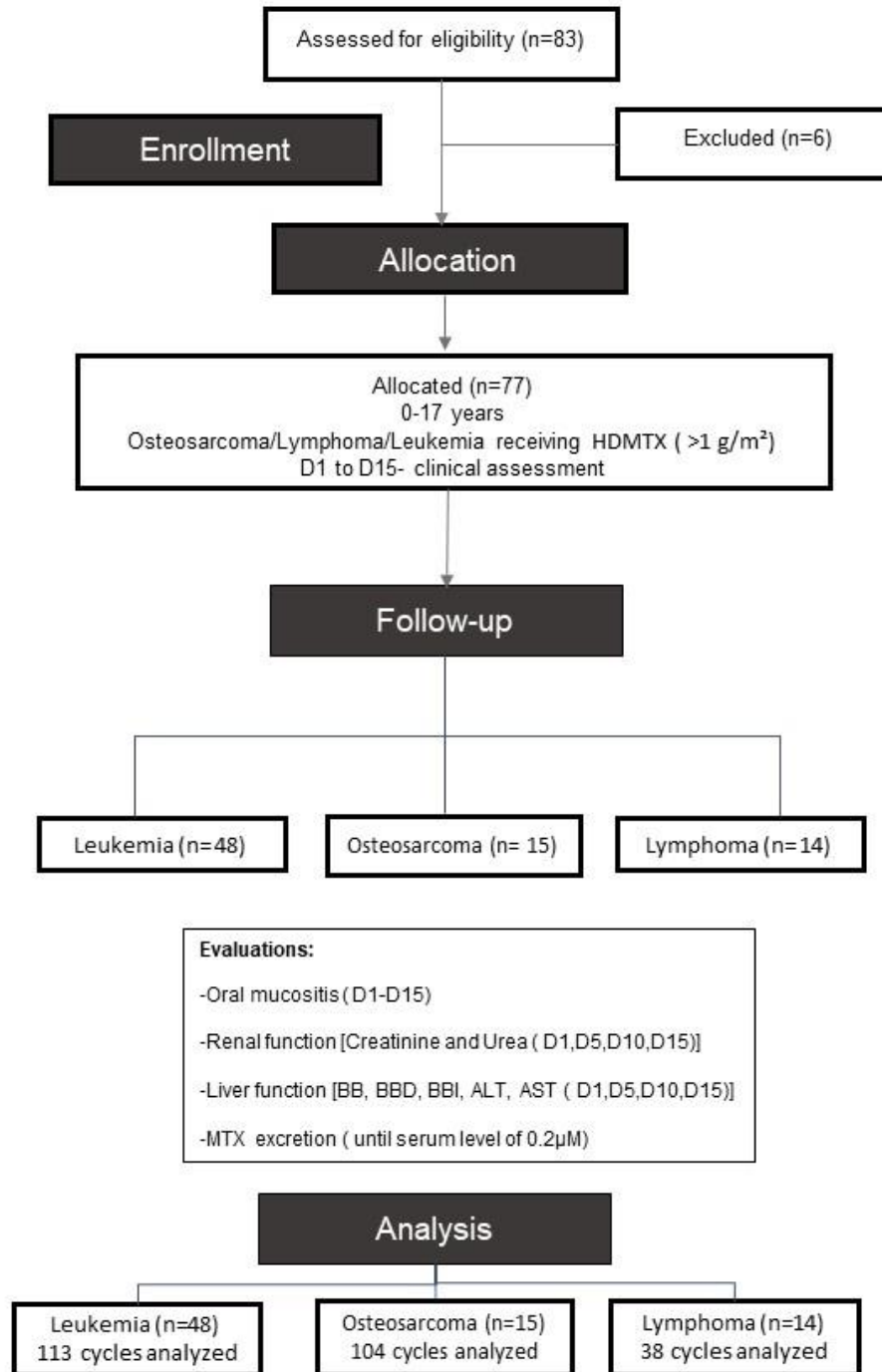
Eighty-three consecutive childhood patients (aged 0 to 18 years) submitted to HD-MTX ( $>1\text{g/m}^2$ ) in some chemotherapy cycle for the treatment of leukemia, osteosarcoma and lymphoma between January 2015 and August 2018 were evaluated. Exclusion criteria comprised failure to attend to clinical evaluation of OM session and patients with recurrence diseases. All patients submitted to treatment based in MTX included in this study received hyperhydration, bicarbonate to decrease kidney precipitation of MTX globules, and leucovorin rescue, with dose adjustment according to MTX concentration curve estimated every 24h to reduce the development of adverse effects. All included patients received oral hygiene instructions (tooth brushing with soft brushes, rinsing with 0.12% alcohol-free chlorhexidine digluconate) prior to chemotherapy.

### **2.2 | Procedures**

Figure 1 displays the study flowchart. Patient demographics and data about baseline disease, treatment protocol and dose of MTX were collected. All patients were

followed from the day of chemotherapy infusion, and this follow up until 15 days after the infusion, each period was considered a cycle. Blood samples were collected on days D1 (onset of chemotherapy), D5 (onset of immunosuppression), D10 (peak on immunosuppression), and D15 for *liver* function [bilirubin (BB), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) ] and renal analyzes (creatinine and urea) in each MTX cycle. In addition, information of MTX serum level (MTX excretion) were obtained in each 24h after MTX infusion until the MTX serum level of 0.2 $\mu$ M. OM was daily evaluated from chemotherapy infusion (D1) until fifteen days after the beginning of treatment (D15). The World Health Organization (WHO)<sup>21</sup> scale was used (grade 0 = no mucositis; grade I = erythema without lesions; grade II = ulcers, but able to eat; grade III = painful ulcers, but able to consume liquid food (nutrition) with analgesia for support; grade IV= requires parenteral or enteral support and continuous analgesia). Patients that presented OM received photobiomodulation (PBM) treatment following the protocol previously described by Weissheimer et al., 2017.<sup>22</sup>

FIGURE 1: FLOWCHART



## 2.4| Statistical analysis:

The highest value of each variable collected through the tests (BB, AST, ALT, Urea and Creatinine) in the same chemotherapy cycle was calculated. The comparison of the means of these variables was performed using the generalized estimated equations (GEE) model. These analyzes were adjusted for the dose used in each cycle and associated with the presence and severity of OM presented in the cycle. The model was composed of an independent working correlation matrix, a robust estimator covariance matrix and a gamma distribution with logarithmic binding function.<sup>23</sup> When significant, the Bonferroni post-hoc test was used. The clearance time analysis was measured, and the distribution of this time was compared to the degrees of mucositis presented by the Mann-Whitney test. Poisson regression model was used to estimate prevalence ratios (PR) and 95% CI studied in relation to the outcome presence of OM being adjusted by dose. Statistical significance was obtained by the generalized linear model using Poisson distribution and evaluated by the Wald test. The analyzes were performed using SPSS version 25. The significance level adopted was 0.05.

## 3 | RESULTS

### *Patient characteristics*

Eighty-tree patients were included during 3 years between 2015 -2018, these 6 had to be excluded due to some clinical or laboratory evaluation, leaving a sample of 77 patients. Male accounted for 44 cases (57%) and female for 33 (43%) with age varying from 0 to 17 years old ( $8.36 \pm 4.88$ ). Leukemia (62.4%), osteosarcoma (19.5%) and lymphoma (18.1%) were the diagnosed diseases (Table 1). The patients totalized 255 cycles of chemotherapy with MTX infusion, 113 (44.3%) were performed in leukemia patients, 104 (40.8%) in osteosarcoma and 38 (14.9%). The mean of time of MTX infusion was 17.1h ( $\pm 9.0$ ) in leukemias, 4.0h ( $\pm 0.0$ ) in osteosarcoma and lymphoma was 8.0 ( $\pm 8.7$ ) (Table 1).

**Table 1.** Patients demographic characteristics and time of infusion according to the base disease.

Base Disease	Age			Gender		Time of infusion (h)	
	Mean (SD)	Min	Max	Male n (%)	Female n (%)	Mean (SD)	Median
<b>Leukemia (n=48)</b>	6.4 (4.2)	0	17	27 (56.3)	21 (43.8)	17.1 (9.0)	24 [6; 24]
<b>Osteosarcoma (n=15)</b>	12.2 (3.9)	6	17	7 (46.7)	8 (53.3)	4.0 (0.0)	4 [4; 4]
<b>Lymphoma (n=14)</b>	11.0 (4.5)	3	17	10 (71.4)	4 (28.6)	8.0 (8.7)	4 [3; 6]
<b>Total (n=77)</b>	8.36 (4,8)	0	17	44 (57.1)	33 (42.9)	10.2(9.0)	4 [3;24]

All patients received HD-MTX (> 1g / m<sup>2</sup>) associated or not to other chemotherapeutic agents according to treatment protocol for each patient. Osteosarcoma patients received exclusively MTX and usually 12g/m<sup>2</sup>. In these patients in 12 cases the dose of MTX was reduced for due to side effects. Patients with leukemia received different treatment protocols with MTX infusion occurring in the consolidation phases alone or associated with cyclophosphamide and doxorubicin. In the group undergoing treatment for lymphomas, MTX were infused concomitantly with cyclophosphamide associated with doxorubicin or cytarabine.

From the 255 cycles analyzed in 77 (30.2%) had delayed the expected elimination of MTX, taking more than 72h to reach the non-toxic level to the organism (0.2 µM). Of them 30 (26.5%) out of 113 analyzed leukemia cycles, 35 (33.6%) referring to the 104 cycles analyzed in osteosarcoma and 13 (34.2%) of 38 cycles in lymphoma patients.

The analyzes of renal and liver function were evaluated according to the base disease (Table 2). In general, patients with lymphoma showed significant higher levels of BB, BBD, BBI and urea. Patients with osteosarcoma exhibited higher levels of AST, ALT and creatinine.



**Table 2.** Comparison of marker means between diseases

	<b>Leukemia</b> (n=113)	<b>Osteosarcoma</b> (n=104)	<b>Lymphoma</b> (n=38)	<b>p-value</b>
	median [p25; p75]	median [p25; p75]	median [p25; p75]	
<b>BB</b>	0,3a [0,3; 0,5]	0,3a [0,3; 0,5]	0,6b [0,3; 1,2]	<b>0,002</b>
<b>BD</b>	0,2b [0,1; 0,2]	0,2ab [0,1; 0,3]	0,3a [0,1; 0,7]	<b>&lt;0,001</b>
<b>BI</b>	0,2b [0,2; 0,3]	0,2a [0,2; 0,2]	0,2b [0,2; 0,4]	<b>0,003</b>
<b>AST</b>	34,0b [27,0; 44,0]	66,5a [34,0; 146,0]	24,5b [17,0; 45,0]	<b>&lt;0,001</b>
<b>ALT</b>	40,0b [22,0; 97,0]	118,0a [51,5; 275,5]	31,0b [21,0; 146,0]	<b>&lt;0,001</b>
<b>Urea</b>	22,0b [16,0; 29,0]	27,0a [21,0; 33,5]	28,5a [20,0; 40,0]	<b>&lt;0,001</b>
<b>Creatinine</b>	0,35b [0,29; 0,42]	0,56a [0,40; 0,75]	0,47a [0,37; 0,59]	<b>&lt;0,001</b>

\* Comparison performed by the Kruskal-Wallis Test; when significant, Dunn's post hoc test was used. Distinct letters represent categories with statistically distinct distributions.

### **Oral Mucositis (OM) and MTX excretion analysis**

OM were diagnosed in 191 (74.9%) of chemotherapy cycles using MTX. Of these, 119 (46.6%) presented ulcerative lesions (grades 2, 3 and 4 of WHO scale). Severe grades (grades 3 and 4) were observed in 39 (15.3%) cycles. OM analyses according to the disease diagnose were demonstrated in Table 2. In general, ulcerative grades of OM were observed in 69.9% of patients with leukemia, 77.9% of patients with osteosarcoma and 81.6 % with lymphoma. Severe grades of OM (grades 3 and 4) were observed more in patients with lymphoma than in leukemia and osteosarcoma ( $p=0.01$ ) (Table 3).

**Table 3.** Comparison of OM episodes in different diseases

		<b>Leukemia</b> (n=113)	<b>Osteosarcoma</b> (n=104)	<b>Lymphoma</b> (n=38)	<b>p-value</b>
		n (%)	n (%)	n (%)	
<b>Oral mucositis (OM)</b>	Absence	34 (30,1)	23 (22,1)	7 (18,4)	0,236
	Present	79 (69,9)	81 (77,9)	31 (81,6)	
<b>Ulcerative lesions</b>	Absence (0 or 1)	69 (61,1)	50 (48,1)	17 (44,7)	0,082
	Present (2, 3 or 4)	44 (38,9)	54 (51,9)	21 (55,3)	
<b>Severe grades</b>	Absence (0,1 or 2)	99 (87,6)	91 (87,5)	26 (68,4)	<b>0,01</b>
	Present ( 3 or 4)	14 (12,4)	13 (12,5)	12 (31,6)	

\* Chi-square test. In bold analysis of adjusted standardized residuals greater than 1.96.

In all patients' cycles analyzed, the excretion time of MTX (since the infusion until to reach the serum level of 0.2 $\mu$ M) ranged from 48h to 264h. In table 3 are demonstrate the results of the excretion time of MTX and the OM analysis. No

association was found between delayed excretion of MTX and OM development (Table 4).

**Table 4.** Excretion time of MTX cycles and the OM analysis in different diseases.

	Non-ulcerative OM			Ulcerative OM			p-value
	Median [p25; p75]	min-máx	n	Median [p25; p75]	min-máx (h)	n	
<b>Leukemia (n=113)</b>	72 [72; 72]	48 - 144	69	72 [48; 96]	24 - 240	44	0.825
<b>Osteosarcoma (n= 104)</b>	72 [72; 96]	48 - 144	50	72 [72; 96]	48 - 264	54	0.997
<b>Lymphoma (n= 38)</b>	72 [48; 72]	48 - 144	17	72 [60; 108]	48 - 192	21	0.107

# Mann-Whitney's test

The relationship among OM, excretion time of MTX, renal and liver function were evaluated as demonstrated in table 5. No statistically significant relationship was observed between changes in liver and kidney enzymes and the development of OM in patient with leukemia and osteosarcoma. Patients diagnosed with lymphoma were positively associated with higher ALT, AST and creatinine values and OM development. However, when the prevalence ratio through Poisson regression was calculated, a relationship between alteration in liver marker BB and increased chances of developing OM was observed in the three diagnoses. The increase of one unit of total BB unit increased the prevalence of OM in 11%. In addition, when BI increase one unit the prevalence of OM increased in 39%. Using this model of analysis, once again the patients diagnosed with lymphoma deserve to be highlighted when relating OM with renal markers, where the increase of one unit in creatinine level increased the prevalence of OM in 37%.

**Table 5.** Analysis of relationship of OM with renal and liver function in different diseases.

OM		Leukemia (n= 113)			Osteosarcoma (n=104)			Lymphoma (n=38)		
		n	Median [IC95%]	p value	n	Median [IC95%]	p value	n	Median [IC95%]	p value
<b>BB</b>	Absence	34	0,401 [0,349; 0,461]	0,069	23	0,452 [0,340; 0,600]	0,918	7	0,537 [0,292; 0,988]	0,071
	Present	79	0,476 [0,414; 0,547]		81	0,459 [0,374; 0,565]		31	1,041 [0,699; 1,548]	
<b>BBD</b>	Absence	34	0,169 [0,138; 0,206]	0,102	23	0,247 [0,174; 0,349]	0,839	7	0,283 [0,140; 0,571]	0,075
	Present	79	0,208 [0,175; 0,247]		81	0,256 [0,190; 0,345]		31	0,617 [0,417; 0,912]	
<b>BBI</b>	Absence	34	0,235 [0,207; 0,266]	0,077	23	0,222 [0,178; 0,278]	0,972	7	0,254 [0,138; 0,468]	0,152
	Present	79	0,274 [0,240; 0,312]		81	0,223 [0,196; 0,254]		31	0,399 [0,255; 0,625]	
<b>AST</b>	Absence	34	42,5 [28,9; 62,5]	0,811	23	04,4 [68,806; 158,281]	0,919	7	27,6 [19,4; 39,2]	<b>0,006</b>
	Present	79	44,8 [36,3; 55,3]		81	06,8 [81,083; 140,677]		31	43,1 [26,3; 70,6]	
<b>ALT</b>	Absence	34	51,4 [33,0; 80,2]	0,167	23	185,9 [111,0; 311,4]	0,83	7	42,1 [18,7; 94,8]	<b>0,04</b>
	Present	79	72,1 [55,4; 93,9]		81	197,6 [148,4; 263,1]		31	87,8 [53,9; 143,0]	
<b>Urea</b>	Absence	34	23,1 [19,5; 27,3]	0,852	23	25,7 [20,6; 32,2]	0,463	7	24,4 [18,4; 32,5]	0,021
	Present	79	22,6 [20,5; 25,0]		81	27,9 [25,1; 30,9]		31	33,5 [27,8; 40,3]	
<b>Creatinine</b>	Absence	34	0,427 [0,331; 0,550]	0,278	23	0,616 [0,503; 0,754]	0,815	7	0,394 [0,335; 0,463]	<b>0,008</b>
	Present	79	0,376 [0,338; 0,418]		81	0,601 [0,473; 0,763]		31	0,595 [0,451; 0,784]	

#GEE model -Gamma distribution – dose-adjusted analyzes of each chemotherapy

BB=total bilirubin; BBD= direct bilirubin; BBI= indirect bilirubin; AST= aspartate aminotransferase; ALT= alanine aminotransferase

#### 4| DISCUSSION

MTX is a chemotherapeutic agent routinely used to treat pediatric cancer, including leukemia, osteosarcoma and lymphoma. MTX interferes in folic acid metabolisms, and it is well elucidated in the literature the relationship of HD-MTX and various side effects. In addition to nephrotoxicity, neurotoxicity and hepatotoxicity, OM has been the goal of many studies due to morbidity, association with secondary infections, induction of parenteral nutrition, interference with planned doses and prolongation of hospitalization days and worsening patient's quality of life<sup>8,11,17</sup> However, there are few studies evaluating these aspects in the pediatric population.<sup>15,11,24-30</sup> Here, we evaluated in a pediatric population the relationship between MTX excretion and liver and kidney function changes, in order to better understand factors that may be predictive of the onset of OM. In general, our results demonstrated high incidence of OM in pediatric patients however, we do not found evidence of the relationship between MTX clearance time with OM. Hepatic (ALT and AST) and renal markers (creatinine) was associated to OM in lymphoma patients.

In the present study, the inpatients children evaluated showed OM in 75% of 255 chemotherapy cycles with HD-MTX. From these, 46.6% presented WHO grade  $\geq$  2 oral. These results are in accordance with the current literature that appointed a prevalence range of 33 to 80% of OM in pediatric chemotherapy patients<sup>15, 27, 31-35</sup>. In

addition, it has been reported that in pediatric patients that received MTX therapy the incidence of OM is expected to affect more than 50% of children<sup>36,37</sup>. This value is quite variable because it depends a lot of the study methodology, the infused doses, the protocols adopted and concomitant with folic acid replacement, introduction of preventive measures for OM, hyperhydration, age group analyzed, OM graduation system used for evaluation, among several other factors.<sup>27,31</sup>

Our results about the high incidence of OM in pediatric patient support the idea that is crucial to adopt preventive protocols for OM in pediatric group that will receive treatment for leukemia, osteosarcoma and lymphomas. It is important to reinforce that all patients were examined once a day after chemotherapy protocol started. Immediately OM was clinically identified a treatment protocol with daily PBM therapy was initiated.<sup>22</sup> This approach probably reduced the severity of OM during the following days and promoted oral mucosa healing.<sup>38-40</sup> We identified only 15.2% of our patients with WHO grades 3 and 4 (severe cases) contrasting the Otmani et al.<sup>25</sup> study in which, patient that do not received PBM treatment protocol for OM showed 32.3% of patients with severe degrees of OM. Currently, systematic reviews have shown positive results with the use of PBM for prevention and treatment of OM.<sup>30,41</sup> In our service, after the present study a preventive protocol with PBM was instituted in the management of pediatric cancer patients undergoing HD-MTX.

Regarding the type of base disease, all groups presented high incidence of ulcerative grades of OM being 69.9% of leukemia patients, 77.9% of osteosarcoma and 81.6 % of lymphomas. Usually in the literature leukemia and lymphomas are evaluated together and has been reported that children with hematologic malignancies showed a 7.0 and 7.1 times increased risk of developing OM compared with CNS and solid tumors.<sup>27</sup> It is important to reinforce that pediatric tumors are rare lesions which is a challenging for clinical studies specially for analysis of specific subtype of diseases. However, here we got to evaluated leukemia and lymphomas singly and interestingly findings were observed. Severe grades of OM (grades 3 and 4) were associated to patients with lymphomas than in leukemias and osteosarcoma ( $p=0.01$ ). Our results revealed that is important to try to evaluate in separate the subtypes of hematologic diseases and the risk factors for toxicities including OM.

Next, we examined the relationship of HD-MTX excretion with OM status. No association was found between delayed excretion of MTX and OM development in

children inpatient analyzed. This result agrees with Allen et al.<sup>27</sup> and Tsurusawa et al.<sup>42</sup> that also did not observed association between OM and HD-MTx administration in children. During follow-up only 77 (30.2%) of 255 cycles demonstrated delayed in MTX excretion, which may have influenced the lack of statistical association between delayed excretion and the development of OM. By the other hand, other studies reported that HD-MTX excretion delayed is a risk factor for OM development.<sup>9,35,36</sup> In a pilot study, published in 2007 Cheng et al.<sup>35</sup> found a statistically significant result between longer MTX excretion time (66h) with development of OM (OR = 8.2 95% CI 1.4–47). Park e Shin<sup>9</sup> also demonstrate higher plasma MTX levels (48h and 72h) associated with OM ( $p = 0.007$  and  $p = 0.046$ ) in 37 pediatric osteosarcoma patients. It is important to highlight that in our institution the patients submitted to HD-MTX receive strict hyperhydration, regular folinic acid rescue, bicarbonate infusion and MTX serum level monitoring which improves the general patient's condition and could prevent the development of side effects. Also, as OM started, we implemented PBM therapy which has been associated to improvement in OM lesions. Also, it is important to discuss that genetic polymorphisms in the metabolic and cellular transport pathway of MTX could influence several clinical outcomes such as response to therapy, duration of hospitalization and development and severity of OM.<sup>13,43</sup>

In leukemia and osteosarcoma patients no association was observed between OM and hepatic and renal enzymes analyzes, however when the three groups were analyzed using Poisson regression, it was shown that the increase in BB levels increases the prevalence of OM, with a higher value associated with BI (39%). Besides that, patients with lymphoma that presented OM were positively associated with hepatic (higher ALT, AST) and renal alteration (higher creatinine values). Moreover, our research demonstrated by the prevalence ratio that alters the level of rearing in one unit is already enough to increase the prevalence of OM by 37%. The association of increase of OM and some chemotherapy protocols have been reported.<sup>31,44</sup> Usually, patients with hematologic diseases presented higher incidence of OM compared to solid tumors.<sup>25,31</sup> In this study, the increase in total BB levels demonstrated an 11% higher prevalence of OM, and when analyzed BI, a 39% increase in the overall sample. BI is also usually associated with hematologic diseases, because as it is formed at the moment of red blood cell destruction and may be altered when there are blood

changes.<sup>45</sup> No studies were found that separately analyzed BI and BD in pediatric patients, when analyzing relationship with OM.

HD-MTX have been associated with hepatic toxicity with elevations of serum ALT and AST values, but these laboratory findings have no clinical significance and require no adjustment of subsequent courses of HD-MTX because most cases are transient and reversible (HOWARD 2016). However, the association of HD-MTX with other chemotherapy agents can promote higher liver and renal dysfunction and be associated to OM development. Then, we believe that the association of OM and hepatic and renal toxicity in our lymphoma patients occurs probably due to the use of HD-MTX with other chemotherapy agents (doxorubicin, cyclophosphamide and cytarabine). All of these chemotherapy agents used on lymphomas protocols have been associated to hepatic and renal toxicity and it is not possible to appoint only one drug as responsible for the toxicity issue.<sup>31,46,47</sup> Our results are in agreement with other studies demonstrating the need for greater attention to lymphoma patients regarding toxicities, including OM.<sup>44,48,49</sup> In addition, other aspects such as immunologic mechanisms of the host and genetic factors are also very important and should be analyzed in future studies to understand and prevent these toxicities.<sup>48,50</sup>

Clinical research in this field is challenging since cancer in pediatric patients that need the use HD-MTX is not so prevalent, the necessity of large number of patients and a wide variety of protocols that can cause toxicities. Besides that, a limitation of our research is the inability to include patients that are receiving therapy on an outpatient basis. Although all these difficulties, in the present study we were able to analyze a substantial number of cycles and the patients were closely followed from the clinical and laboratory point of view. Our results reinforce the need of identification of risk factors for OM to qualify and individualize preventive protocols.

## **CONCLUSIONS**

OM was a prevalent complication of childhood cancer patients submitted to HD-MTX indicating that OM preventive measures should be planned for these patients. No association was observed between HD-MTX clearance time and OM. Besides that, patients with lymphoma presented more risk to development OM with hepatic and renal toxicity indicating that a close monitoring of these patients is necessary for predict, prevent and treat all toxicities.

## References

1. Foucher-Estliarova E, Collombet M, Ries LAG, Moreno F, Dolya A, Bray F, Hesselning P, Shin HY, Stiller C. International incidence of Childhood Cancer 2001-10: a population based registry study. *The Lancet Oncology*. 2017; 18(6): 719-731.
2. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F (2018). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>, accessed [10 october 2019].
3. Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Incidência, Mortalidade e Morbidade Hospitalar por Câncer em Crianças, Adolescentes e Adultos Jovens no Brasil: Informações dos Registros de Câncer e do Sistema de Mortalidade. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, INCA; Rio de Janeiro, Brazil: 2017.
4. Teixeira JF, Maia-Lemos PD, Cypriano MD, Pisani LP. The influence of antineoplastic treatment on the weight of survivors of childhood cancer. *J Pediatr*. 2016; 401:1-8.
5. Niederwieser D, Baldomero H, Szer, J, Gratwohl, M, Aljurf, M, Atsuta, Y, Bouzas L.F, Confer D, Greinix, H, Horowitz, M et al. Hematopoietic stem cell transplantation activity worldwide in 2012 and a SWOT analysis of the Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation Group including the global survey. *Bone Marrow Transplant*. 2016; 51: 778–785.
6. Ribeiro IP, Melo JB, Carreira IM. Cytogenetics and Cytogenomics Evaluation in Cancer. *Int J Mol Sci*. 2019; 20 (19) :4711.
7. Houghton PJ, Kurmasheva RT. Challenges and Opportunities for Childhood Cancer Drug Development. *Pharmacological Reviews*. 2019; 71:671-697.
8. Howard SC, McCormick J, Pui CH, Buddington RK, Harvey RD. Preventing and managing toxicities of high-dose methotrexate. *Oncologist*. 2016; 21(12):1471–1482.
9. Park JA, Shin HY. Influence of genetic polymorphisms in the folate pathway on toxicity after high-dose methotrexate treatment in pediatric osteosarcoma. *Blood Res*. 2016; 51: 50-57.



10. Chang YH, Yu MS, Wu KH, et al. Effectiveness of parenteral glutamine on methotrexate-induced oral mucositis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Nutr Cancer*. 2017 Jul; 69: 746–751.
11. Mazhari F, Shirazi A S, Shabzندهdar M. Management of oral mucositis in pediatric patients receiving cancer therapy: A systematic review and meta-analysis. *Pediatr Blood Cancer*. 2019; 66: e27403.
12. Xue Y, Rong L, Tong N, Wang M, Zhang Z, Fang Y. CCND1 G870A polymorphism is associated with toxicity of methotrexate in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015; 8: 11594–11600
13. Liu S G, Gao C, Zhang R D, Zhao X X, Cui L, Li W J, Zheng H Y. Polymorphisms in methotrexate transporters and their relationship to plasma methotrexate levels, toxicity of high-dose methotrexate, and outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget*. 2017; 8(23): 37761–37772
14. Hong, C HL, Gueiros L A, Fulton J et al. Systematic review of basic oral care for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. *Support Care Cancer*. 2019; 27: 3949
15. Miller MM, Donald DV, Hagemann TM. Prevention and treatment of oral mucositis in children with cancer. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2012; 17: 340–350.
16. Koby B H, Guducu F. Honey prevents oral mucositis in children undergoing chemotherapy: a quasi-experimental study with a control group. *Complement Ther Med*. 2016; 29: 132–140.
17. Campbell J M, Bateman E, Stephenson M D et al. Methotrexate induced toxicity pharmacogenetics: an umbrella review of systematic reviews and meta analyses. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2016; 78: 27.
18. Csordas K, Lautner-Csorba O, Semsei AF, Harnos A, Hegyi M, Erdelyi DJ, Eipel OT, Szalai C, Kovacs GT. Associations of novel genetic variations in the folate-related and ARID5B genes with the pharmacokinetics and toxicity of high-dose methotrexate in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2014; 166:410–420.
19. Lopez-Lopez E, Ballesteros J, Piñan MA, Sanchez de Toledo J, Garcia de Andoin N, Garcia-Miguel P, Navajas A, Garcia-Orad A. Polymorphisms in the methotrexate transport pathway: a

- new tool for MTX plasma level prediction in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenet Genomics*. 2013; 23: 53–61.
20. Von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: Guidelines for Reporting Observational Studies. *Ann Intern Med*. 2007; 147:573-7.
  21. World Health, Organization (1979) Handbook for reporting results of cancer treatment. World Health Organization, Geneva, pp 15–22.
  22. Weissheimer C, Curra M, Gregianin LJ, Daudt LE, Wagner VP, Martins MAT, et al. New photobiomodulation protocol prevents oral mucositis in hematopoietic stem cell transplantation recipients-a retrospective study. *Lasers Med Sci*. 2017; 32((9)):2013–21.
  23. Guimarães L S P, Hirakata V N. Use of the generalized estimating equation model in longitudinal data analysis. *Revista HCPA*. 2012 32 (4): 503-511.
  24. Cheng KK, Lee V, Li CH, Yuen HL, Epstein JB. Oral mucositis in pediatric and adolescent patients undergoing chemotherapy: the impact of symptoms on quality of life. *Support Care Cancer*. 2012. Oct; 20(10): 2335-2342.
  25. Otmani N, Alami R, Hessissen L, et al. Determinants of severe oral mucositis in paediatric cancer patients: a prospective study. *Int J Paediatr Dent*. 2011;21(3):210–216.
  26. Noirrit-Esclassan E, Valera M C, Pasquet M et al. Photobiomodulation with a combination of two wavelengths in the treatment of oral mucositis in children: The PEDIALASE feasibility study. *Arch Pediatr*. 2019; 26 (5): 268-274.
  27. Allen G, Logan R, Revesz T, Keefe D, Gue S. The Prevalence and Investigation of Risk Factors of Oral Mucositis in a Pediatric Oncology Inpatient Population; a Prospective Study. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2018; 40(1): 15-21.
  28. Oosterom N, Griffioen PH, den Hoed MAH, Pieters R, de Jonge R, Tissing WJE, et al. Global methylation in relation to methotrexate-induced oral mucositis in children with acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One*. 2018; 13 :e0199574.

29. Van der Beek J N, Oosterom N, Pieters R, De Jonge R , van den Heuvel-Eibrink MM, Heil SG. The effect of leucovorin rescue therapy on methotrexate-induced oral mucositis in the treatment of paediatric ALL: A systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019. 142: 1-8.
30. He M, Zhang B, Shen N, Wu N, Sun J. A systematic review and meta-analysis of the effect of low-level laser therapy (LLLT) on chemotherapy-induced oral mucositis in pediatric and young patients. *Eur J Pediatr*. 2018; 177(1): 7–17.
31. Chaveli-Lopez B. Oral toxicity produced by chemotherapy: a systematic review. *J Clin Exp Dent*. 2014;6 (1):e81–e90.
32. Velten D B, Zandonade E, Barros M H M. Prevalence of oral manifestations in children and adolescents with cancer submitted to chemotherapy. *BMC Oral Health*. 2017; 17: 3–6.
33. Harris DJ, Eilers J, Harriman A, Cashavelly BJ, Maxwell C. Putting evidence into practice: Evidence-based interventions for the management of oral mucositis. *Clin J Oncol Nurs* 2008; 12: 141-52.
34. Didem A, Ayfer E, Ferda OA. The effect of chewing gum on oral mucositis in children receiving chemotherapy. *Health Sci J*. 2014; 8: 373-82.
35. Cheng K K F. Oral mucositis: a phenomenological study of pediatric patients' and their parents' perspectives and experiences. *Support Care Cancer*. 2007; 17(7):829–837.
36. Rask C, Albertioni F, Bentzen SM, et al. Clinical and pharmacokinetic risk factors for high-dose methotrexate induced toxicity in children with acute lymphoblastic leukemia: a logistic regression analysis. *Acta Oncol*. 1998; 37: 277–284.
37. Cheng K K F, Chang A M, Yuen M P . Prevention of oral mucositis in paediatric patients treated with chemotherapy: a randomised crossover trial comparing two protocols of oral care. *EurJCancer*. 2004; 40: 1208– 1216.
38. Zadik Y, Arany PR, Elad S. Systematic review of photobiomodulation for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. *Supportive Care in Cancer*. 2019. 27:3969-3983.

39. Curra M, Peliciolli A C, Filho N A, Ochs G, Matte U, Filho M S, Martins M A, Martins M D. Photobiomodulation reduces oral mucositis by modulating NF- $\kappa$ B. *J Biomed Opt.* 2015; 20(12): 125008, 2015.
40. Migliorati C, Hewson I, Lalla RV, et al. Systematic review of laser and other light therapy for the management of oral mucositis in cancer patients. *Support Care Cancer.* 2013; 21(1): 333–341.
41. Anschau F, Webster J, Capra M E Z, de Azeredo da Silva A L F, Stein A T. Efficacy of low-level laser for treatment of cancer oral mucositis: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci.* 2019; 34(6): 1053-1062.
42. Tsurusawa M, Gosho M, Mori T, Mitsui T, Sunami S, Kobayashi R, Fukano R, Tanaka F, Fujita N, Inada H, et al. Statistical analysis of relation between plasma methotrexate concentration and toxicity in high-dose methotrexate therapy of childhood nonHodgkin lymphoma. *Pediatr Blood Cancer.* 2015;62:279–284.
43. Serra M, Hattinger C M. Polymorphisms of genes related to Methotrexate response and toxicity in high-dose osteosarcoma. *Expert opin drug metab toxicol.* 2016; 13(1):123.
44. May J, Carson K R, Butler S, Liu W, Bartlett N L , Wagner-Johnston N D. High incidence of methotrexate associated renal toxicity in patients with lymphoma: A retrospective analysis. *Leuk. Lymphoma.* 2014 ;55: 1345–1349.
45. Roy-Chowdhury J, Jansen P L M. Bilirubin metabolism and its disorders. ZAKIM D & BOYER T D, eds. *Hepatology - A text book of liverdisease.* W. B. Saunders Company, 1996; 3: 323-361.
46. De Leve L D. Cancer chemotherapy. In Kaplowitz N, De Leve eds. *Drug-induced liver disease.* Elsevier, 2013; 3: 541-567.
47. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. About LIVERTOX®. [Updated 2019 Jun 27]; 2. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548196/>.
48. Miron I, Maria Moisa S, Lucaci L, Arcenescu-Georgescu C, Miron L, Ciubara A, Burlea M. Chemotherapy related toxicity in childhood neoplasia. *J BUON.* 2014; 19(4):1070-5.

49. Olson M R, Donaldson S S. Treatment of Pediatric Hodgkin Lymphoma. Current treatment options in oncology. 2008; 9: 81-94.

50. Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. N Engl J Med. 1995; 333: 1118-1127

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O MTX é um dos quimioterápicos utilizados no tratamento do câncer infantil e que ocasiona várias toxicidades que por sua vez, podem levar a interrupção do tratamento. Dentre essas complicações, a MB é uma das mais prevalentes. Em razão, disso conhecer os possíveis fatores agravantes ou preditores do desenvolvimento de MB se tornou fundamental para qualificar o tratamento e proporcionar menor morbidade, ainda mais quando se trata de pacientes pediátricos.

Apesar da intensa toxicidade geral ocasionada pelo uso do MTX, monitorar seu tempo de depuração não mostrou associação com desenvolvimento de MB. Por outro lado, o monitoramento de enzimas hepáticas e renais, mostrou ser importante como fator preditor de MB, pois alterações de BB total aumentaram a prevalência de MB em 10%, e no caso da BBI o aumento de um ponto representou 39% maior prevalência de MB.

Os pacientes com diagnóstico de linfoma, costumam receber protocolos mais variados e apresentar mais toxicidade, necessitando de maiores medidas de suporte. Observamos no presente estudo associação positiva entre aumento de ALT, AST e creatinina com maior incidência de MB. Além disso, os pacientes deste grupo apresentaram 37% maior prevalência de MB quando obtiveram aumento de um ponto de creatinina.

Os estudos que avaliam MB e seu fatores de risco em pacientes pediátricos são escassos, sendo necessários mais estudos para afirmar e demonstrar que resultados poderiam nos indicar maior necessidade de atenção e, no que tange este aspecto, os polimorfismos gênicos vem ganhando cada vez mais evidência.

Ficou evidenciada a alta prevalência de MB nos pacientes pediátricos deste estudo e, portanto, medidas preventivas se fazem necessárias. A fotobiomodulação vem apresentando resultados muito positivos no tratamento e prevenção da MB, porém em muitas instituições esta abordagem não é uma realidade pela ausência de equipamento e pessoal treinado. Em outras instituições, a FBM preventiva sendo priorizada para pacientes com alto risco de MB como os submetidos a transplantes de células tronca progenitoras e submetidos a radioterapia de cabeça e pescoço. Os resultados do nosso estudo demonstram a necessidade de implementação de

cuidados preventivos de MB para crianças em tratamento oncológico, especialmente as com linfomas. No serviço de Oncologia pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre diversas medidas de suporte já são utilizadas como protocolos de prevenção as toxicidades e após este estudo mais uma foi introduzida: o uso da fotobiomodulação preventiva em pacientes que recebem AD-MTX com objetivo de diminuir incidência e a gravidade de MB. O desenvolvimento desta pesquisa resultou numa melhor qualificação dos serviços ofertados e melhor cuidado ao paciente oncológico infantil.

## REFERÊNCIAS

AL-DASOQI, N. et al. Emerging evidence on the pathobiology of mucositis. **Support Care Cancer**, v.21: 2075-83, 2013.

ALLEN, G. et al. The Prevalence and Investigation of Risk Factors of Oral Mucositis in a Pediatric Oncology Inpatient Population; a Prospective Study. **J Pediatr Hematol Oncol**. v.40(1) :15-21, 2018.

ARIYAWARDANA, A. et al. Systematic review of anti-inflammatory agents for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. **Supportive Care in Cancer**. Oct; 27(10): 3985-3995, 2019.

BACHOUR, P.C.; SONIS, S.T. Predicting mucositis risk associated with cytotoxic cancer treatment regimens: rationale, complexity, and challenges. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**. v.12(2):198–210, 2018.

BERTOLINI, M et al. Chemotherapy induces oral mucositis in mice without additional noxious stimuli. **Transl Oncol**. v. 10: 612–620, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de informática do SUS. Sistema de informações sobre mortalidade. Brasília, DF, 2017. Disponível em: <  
[www.datasus.gov.br](http://www.datasus.gov.br)> Acesso em: 13 out. 2019.

CAMPEBELL, J. M. et al. Methotrexate induced toxicity pharmacogenetics: an umbrella review of systematic reviews and meta analyses. **Cancer Chemother Pharmacol**. v.78: 27, 2016.

CHAUDRY et al. The incidence and severity of oral mucositis among allogeneic hematopoietic stem cell transplantation patients: a systematic review. **Biol. Of Blood and Marrow Transplant**. v.22, p. 605-616, 2016.

CHAVELI-LOPEZ, B. Oral toxicity produced by chemotherapy: a systematic review. **J Clin Exp Dent**. v. 6(1): e81–e90., 2014.

CHENG, K. K. F. Oral mucositis: a phenomenological study of pediatric patients' and their parents' perspectives and experiences. **Support Care Cancer**. V. 17(7):829–837., 2007.



COHEN, I J; WOLF, J.E. How long can folinic acid rescue be delayed after high-dose methotrexate without toxicity. **Pediatr.Blood Cancer**. v. 61(1): 7-10, 2014.

DAVIDSON, A.; HOWARD, S.C. Delivering modern anti cancer therapies in low-and middle-income settings: We can be evidence based. **Pediatr. Blood Cancer**. v. 65: e27347., 2018.

DE FREITAS, L.F.; HAMBLIN, M.R. Proposed mechanisms of photobiomodulation or low-level light therapy IEEE journal of selected topics in quantum electronics: a publication of the IEEE **Lasers and Electro-optics Society** v. 22, 2016.

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

ELAD, S.; ZADIK, Y.; YAROM, N. Oral complications of nonsurgical cancer therapies. **Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am**. v. 25(2): 133–147, 2017.

GARCIA PUIG, M. et al. Neurotoxicity due to methotrexate in paediatric patients. Description of the clinical symptoms and neuroimaging findings. **Rev Neurol**. v.54 (12): 712-8.

GOBBO, M. et al., Multicenter randomized, double-blind controlled trial to evaluate the efficacy of laser therapy for the treatment of severe oral mucositis induced by chemotherapy in children: laMPO RCT. **Pediatr Blood Cancer**. e 27098, 2017.

HAGAG, A.A.; ELGAMSY, M.A.; EL-ASY, H.A.; MABROUK, M.M. Protective Role of Sily marinon Hepatic and Renal Toxicity Induced by MTX Based Chemotherapy in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. **Mediterr J Hematol Infect Dis**. v.8, p. 1-9,2016.

HONG, C. H.L. et al. Systematic review of basic oral care for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. **Support Care Cancer**.v. 27: 3949, 2019.

HOWARD, S.C. et al. Preventing and managing toxicities of high-dose methotrexate. **Oncologist**. v. 21(12):1471–1482, 2016.

HOUGHTON, P.J.; KURMASEVA, R.T.Challenges and Opportunities for Childhood Cancer Drug Development. **Pharmacological Reviews**. v.71:671-697, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Incidência, Mortalidade e Morbidade Hospitalar por Câncer em Crianças, Adolescentes e Adultos Jovens no Brasil: **Informações dos Registros de Câncer e do Sistema de Mortalidade. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, INCA**; Rio de Janeiro, Brazil: 2017.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. FERLAY, J. et al. **Global Cancer Observatory: Cancer Today**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer., 2018. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today>, acesso em 10 outubro de 2019.

KAWAKTSU, S. et al. Population pharmacokinetic analysis of high-dose methotrexate in pediatric and adult oncology patients. **Cancer chemotherapy and pharmacology**. October, 2019.

KHAW, A.; LIBERAL , S.; LOGAN, R.; KEEFE,D. BERTOLD,M. Influence of periodontitis on the experience of oral mucositis in câncer patients undergoing head and neck radiotherapy: a pilot study. **SupportCareCancer**. 2014.

KU, M.; BAZARGAN, A.; TAM, C. The addition of low dose acetazolamide as an adjunct in patients undergoing High dose Methotrexate is safe and beneficial. **Intern Med J**. v.12, 2019.

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

LELES, R. N. Monitorização terapêutica do metotrexato sob altas doses em pacientes pediátricos de leucemia linfoblástica aguda. **Dissertação de mestrado**, Goiás, UFS, 2008.

LIU, S.G. et al. Polymorphisms in methotrexate transporters and their relationship to plasma methotrexate levels, toxicity of high-dose methotrexate, and outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Oncotarget**. v. 8(23): 37761–37772, 2017.

LOPEZ-LOPEZ, E. et al. A systematic review and meta-analysis of MTHFR polymorphisms in methotrexate toxicity prediction in pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Pharmacogenomics J.** v. 13(6):498–506, 2013.

MOGHADAM et al. Pre-administration of turmeric prevents methotrexate-induced liver toxicity and oxidative stress. **BMC Complement altern med.** v. 15, no 246, p. 1-13, 2015.

MAZHARI, F.; SHIRAZI, A. S., SHABZENDEHDAR, M. Management of oral mucositis in pediatric patients receiving cancer therapy: A systematic review and meta-analysis. **Pediatr Blood Cancer.** v. 66: e27403, 2019.

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

MILLER, M. M.; DONALD, D.V.; HAGERMANN, T. M. Prevention and Treatment of Oral Mucositis in Children with Cancer. **J Pediatr Pharmacol Ther.** v. 17, no 4, p. 340-350, 2012.

NOIRRIT-ESCLASSAN, E. et al. Photobiomodulation with a combination of two wavelengths in the treatment of oral mucositis in children: The PECIALASE feasibility study. **Arch Pediatr.** v.26 (5): 268-274, 2019.

PATUSSI et al. Clinical assesment of oral mucositis and candidiasis compare to chemotherapeutic nadir in transplanted patients. **Braz Oral Res.** v.28 p. 1-7, 2014.

PARK, J.A.; SHIN, H. Y. Influence of genetic polymorphisms in the folate pathway on toxicity after high-dose methotrexate treatment in pediatric osteosarcoma. **Blood Res.**v. 51, no, p.51:50-7, 2016.

PICO, J. L.; AVILA-GARAVITO, A.; NACCACHE, P. Mucositis: its occurrence, consequences, and treatment in oncology setting. **Oncologist.** v.3, no 6, p.446-451, 1998.

PIOTO, L. R. **Estudo de biodisponibilidade relativa entre duas formulações de Metotrexato em plasma humano utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série.**2007, 94f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) Faculdade de ciências médicas, Universidade de Campinas, 2007.

Disponível

em:

<<http://libdigi.unicamp.br/document/?view=vtls000431312>>.

PLARD, C. et al. A limited sampling strategy to estimate individual pharmacokinetic parameters of methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol.* v.60: 609–620, 2007.

RECOLONS et al. Buccodental health and oral mucositis. Clinical study in patients with hematological diseases. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.** v.11, p.E497-E502, 2006.

SERRA, M.; HATTINGER C.M. Polymorphisms of genes related to Methotrexate response and toxicity in high-dose osteosarcoma. **Expert opin drug metab toxicol.** v.13, no 1, p.123, 2016.

SILVA et al. The Impact of Low-Level Laser Therapy on Oral Mucositis and Quality of Life in Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation Using the Oral Health Impact Profile and the Functional Assessment of Cancer Therapy-Bone Marrow Transplantation Questionnaires. **Photomed Laser Surg.** v. 33, no 7, p.357-363, 2015.

SONIS, S.T. Pathobiology of mucositis. **Semin Oncol Nurs.** v. 20, p. 11-15, 2004.

SONIS, S.T. Mucositis: the impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. **Oral Oncol** v. 45:1015–1020, 2009.

SONIS, S.T. Oral Mucositis. **Anti-Cancer Drugs.**v. 22, p. 607–612, 2011.

SURESH et al. Risk-scoring system for predicting mucositis in patients of head and neck cancer receiving concurrent chemo radio- therapy. **J Cancer Res Ther.** v.6, no 4, 448-451, 2010.

VAISHNAVI, K. D.; BANSAL, A.; TREHAN, R.; JAIN, S.V. Improving the safety of high-dose methotrexate for children with hematologic cancers in settings without access to MTX levels using extended hydration and additional leucovorin. **Pediatr.Blood Cancer.** p. e27241, 2018.

VAN DER BEEK, J.N. et al. The effect of leucovorin rescue therapy on methotrexate-induced oral mucositis in the treatment of paediatric ALL: A systematic review. **Crit Rev Oncol Hematol.** v. 142: 1-8, 2019.

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

VILLA, A.; SONIS, S.T. Mucositis: pathobiology and management. *Curr Opin Oncol.* v.27(3): 159-64, 2015.

WENNESRSTRAND, P. et al. Methotrexate bind store combinant thiopurine S-methyl transferase and inhibits enzyme activity after high-dose infusions in childhood leukaemia. **Eur.J.Clin. Pharmacol.** v.69(9), 1641–1649, 2013.

YAO, P. et al. The influence of MTHFR genetic polymorphisms on adverse reactions after methotrexate in patients with hematological malignances: a meta-analysis. **Hematology**, 2018.

YAROM, N. et al. Systematic review of natural and miscellaneous agents for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines—part 1: vitamins, minerals, and nutritional supplements. **Supportive Care in Cancer.** v. 27(10) 3997-4010,2019.

ZADIK, Y.; ARANY, P.R.; ELAD, S. Systematic review of photobiomodulation for the management of oral mucositis in cancer patients and clinical practice guidelines. **Supportive Care in Cancer.** v. 27:3969-3983, 2019.

ZAKARIA, S. Natural remedies target different therapeutic pathways in oral mucositis induced by cancer chemo or radiotherapy. **Am J Phytomed Clinic Therapeut** .v.5:4, 2017.

ZHANG, Q.; WANG, F., JIA, K.; KONG, L. Natural product interventions for chemotherapy and radiotherapy-induced side effects. **Pharmacol.** v. 9:1253–1278, 2018.

## APÊNDICE 1

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

#### **Justificativas**

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

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

#### **Procedimentos do estudo**

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

uma destas 04 avaliações implica na retirada do paciente do estudo. Uma vez que o paciente apresente alguma lesão de mucosite, ele receberá o tratamento de laserterapia. O laser é aplicado na lesão fazendo com que esta cicatrize mais rápido. Além disso, em caso de apresentar algum problema dentário, o paciente receberá tratamento adequado para este.

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

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

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

### **Voluntariedade**

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

### **Ressarcimento**

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

### **Confidencialidade dos dados**

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

### **Esclarecimentos e contatos**

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

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

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

Nome do participante \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_(se aplicável)

Nome do responsável \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Nome do pesquisador \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

(aquele que conduziu o processo de consentimento)

Local e data:



## APÊNDICE 2



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

### COMISSÃO CIENTÍFICA

A Comissão Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre analisou o projeto:

**Projeto:** 160608

**Data da Versão do Projeto:** 20/11/2016

**Pesquisadores:**

LAURO JOSÉ GREGIANIN  
MICHAEL EVERTON ANDRADES  
MANOELA DOMINGUES MARTINS  
AMANDA DE FARIAS GABRIEL  
MARINA CURRA  
MARIO CORREA EVANGELISTA JUNIOR  
JÉSSICA BERTÉ VALER  
MARIA BEATRIZ CARDOSO FERREIRA  
MARCO ANTONIO TREVIZANI MARTINS

**Título:** ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS C677T e A1298C DO GENE METILENO TETRAHIDROFOLATO REDUTASE (MTHFR) COM A SEVERIDADE DE MUCOSITE BUCAL, TOXICIDADE HEPÁTICA E CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE METABÓLITOS DE METOTREXATE (MTX) EM PACIENTES PEDIÁTRICOS

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.  
Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.

- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG)

Porto Alegre, 20 de março de 2017.

  
Prof. José Roberto Goldim  
Coordenador CEP/HCPA