

UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO - UNAERP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Carolina Della Torre Lima

UTILIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *Mikania laevigata* Sch. Bip. Ex Baker NO
TRATAMENTO DE MUCOSITE BUCAL E XEROSTOMIA

RIBEIRÃO PRETO - SP

MAIO 2015

Carolina Della Torre Lima

UTILIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *Mikania laevigata* Sch. Bip. Ex Baker NO
TRATAMENTO DE MUCOSITE BUCAL E XEROSTOMIA

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia, para obtenção de
título de Mestre em
Biotecnologia de Plantas
Medicinais.

Orientadora: Profa. Dra. Bianca Waléria Bertoni

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Maria Soares Pereira

RIBEIRÃO PRETO – SP

MAIO 2015

L732u

Lima, Carolina Della Torre, 1977-

Utilização do extrato aquoso de *mikania laevigata* sch. bip. Ex
baker no tratamento de mucosite bucal e xerostomia / Carolina
Della Torre Lima. - - Ribeirão Preto, 2015.

63f.: il.: color

Orientadora: Prof^a. Dra. Bianca Waléria Bertoni.

Dissertação (mestrado) - Universidade de Ribeirão Preto,
UNAERP, Biotecnologia de plantas medicinais. Ribeirão Preto, 2015.

1. Antimicrobiano. 2. Anti-inflamatório. 3. Guaco. I. Título.
CDD 660

CAROLINA DELLA TORRE LIMA

UTILIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *MIKANIA LAEVIGATA* SCH. BIP. EX.
BAKER, NO TRATAMENTO DE MUCOSITE BUCAL E XEROSTOMIA

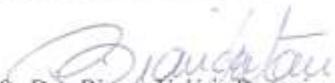
Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto, para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia Aplicada à Saúde

Data da defesa: 16 de abril de 2015

Resultado: Aprovada

BANCA EXAMINADORA



Profª. Dra. Bianca Valéria Bertoni
Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP



Profª. Dra. Yara Teresinha Correa Silva Sousa
Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP



Profª. Dra. Sílvia Helena Taleb Contini
Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP

RIBEIRÃO PRETO - SP
2015

Dedico este trabalho em benefício de todos os seres sencientes. Possam nem mesmo os nomes
doença guerra ou sofrimento serem ouvidos pelas pessoas e nações da Terra, mas possam sim
a suprema bem aventura e bem estar sempre surgir para elas.

Agradecimentos

À Unidade de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto, e a todos deste departamento que inúmeras vezes se dispuseram física e intelectualmente para a realização deste trabalho.

À Terra de Esmael, que permitiu o acesso às plantas, às suas instalações e aos seus funcionários.

Ao Serviço de Radioterapia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, que atenciosamente abriu suas portas para uma desconhecida em nome de um bem maior.

Aos meus familiares e amigos, que também me suportaram e ajudaram de tantas maneiras durante este período.

Finalmente ao Universo, que permitiu a mim, fazer amigos, criar novos relacionamentos e ter experiências únicas em virtude da realização deste trabalho.

RESUMO

O tratamento radioterápico para câncer frequentemente causa sequelas na cavidade bucal, como lesões da mucosa, caracterizadas por eritema, ulceração, formação de pseudomembrana, denominadas mucosite e danos às glândulas salivares caracterizadas pela diminuição ou perda da produção de saliva denominada xerostomia. Ambas, se relacionam com dificuldade de ingestão de alimentos, de fala, infecções bucais, sistêmicas, interrupção do tratamento e internações. Medicamentos fitoterápicos tem sido desenvolvidos em todo mundo, para o tratamento de diversas doenças. *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker, é uma planta rica em cumarina, e já foi citada na literatura por possuir, entre outras, capacidade anti-ulcerogênica, anti-inflamatória e antimicrobiana. Nesta pesquisa realizou-se um ensaio clínico duplo cego com o extrato aquoso de *Mikania laevigata* e placebo para avaliação da prevenção e tratamento da mucosite bucal e da xerostomia. Vinte e nove pacientes com câncer de cabeça e pescoço foram acompanhados durante o tratamento radioterápico e alocados aleatoriamente nos grupos de estudo. Durante este período foram instruídos a fazer uso das soluções como bochecho, 3 vezes ao dia e foram examinados por um odontólogo a cada 2 semanas para investigação das lesões de mucosite e xerostomia bem como para avaliação da qualidade de vida. Ao final do levantamento de dados, comparações estatísticas foram realizadas demonstrando que em relação aos critérios de qualidade de vida, não houveram diferenças estatísticas entre os grupos. Em relação às funções relacionadas ao trabalho observou-se melhor performance para o grupo que recebeu o fitoterápico. Na comparação da intensidade de lesões de mucosite pela OMI-20, OMS e RTOG, não foi identificada diferenças estatísticas entre os grupos. Na avaliação da percepção de dor também não houve diferenças estatísticas entre os grupos. Enquanto que para avaliação da percepção de xerostomia, notou-se melhora estatisticamente significativa, da sensação de boa seca para os pacientes que receberam o extrato aquoso de *M. laevigata*.

PALAVRAS CHAVE:

Radio-sequela, guaco, anti-ulcerogênico, anti-inflamatório, antimicrobiano.

ABSTRACT

The radiotherapy treatment for cancer usually causes injuries in the mouth, such as mucosal damage characterized for erythema, ulceration and the presence of a pseudo membrane, that is called mucositis and also injuries to the salivary glands, characterizes for loss of the salivary production called xerostomia. Both problems are related to difficulty to ingest food, to speak, to oral and systemic infections, interruption of the treatment and hospitalization. Phytotherapy medication has been developed all over the world to treat many different diseases. *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker is a medicinal herb that contains a high percentage of coumarin and have been cited for its anti-ulcerogenic, anti-inflammatory and anti-microbes properties. In the present study, a double-blind clinical essay was conducted with aqueous extract of *Mikania laevigata* and placebo to rate de prevention and treatment of oral mucositis and xerostomia. Patients with head and neck cancer were accompanied during the radiotherapy treatment and allocated randomly into two groups: placebo and phytotherapeutic. During this period, they were told to use the solutions as a mouth wash 3 times daily and were examined by a dentist in every 2 weeks for mucositis and xerostomia investigation, as well to evaluate quality of life aspects. At the end of data survey, statistical analyses were run through the groups, demonstrating that in quality of life aspects there were no significant differences between groups, in role functioning of physical aspects, the group that used the phytotherapeutic show a better score than the placebo. In comparison of mucositis intensity by OMI-20, OMS and RTOG, there were no statistical differences between groups. Also, in pain scores evaluation there were no differences between groups. Although the investigation of xerostomia show a statistical improvement in dry mouth sensations for the group that used *M. laevigata* extract.

KEY-WORDS:

Radio-injury, guaco, anti-ulcerogenic, anti-microbianic, anti-inflammatory.

Lista de Figuras

- Figura 1 – Preparo do Material vegetal de *Mikania laevigata*. A-Folhas Coletadas, 17
B- Folhas depositadas em estufa de ar circulante, C - Folhas secas, pesadas e armazenadas. Fonte: Arquivo Pessoal.
- Figura 2 – Etapas do preparo do extrato aquoso de *Mikania laevigata*. A – Folhas 18
secas vertidas em água. B – Extrato após filtragem simples. C – Filtragem em funil Buchner. D - Envasamento. Fonte: Arquivo Pessoal.
- Figura 3 - Cromatograma do extrato aquoso de *M. laevigata* autoclavado. 25
- Figura 4 - Cromatograma do extrato aquoso de *M. laevigata* não autoclavado. 25
- Figura 5 – Avaliação de mucosite em paciente tratado com extrato aquoso de 26
Mikania laevigata. Indivíduo do grupo fitoterápico ao final da quinta semana de tratamento (A) e ao final da sétima semana de tratamento (B).
- Figura 6 - Avaliação de mucosite em paciente tratado com Placebo. Indivíduo do 26
grupo placebo ao final da quinta semana de tratamento (A) e ao final da sétima semana de tratamento (B).
- Figura 7 - Avaliação do Estado Geral de Saúde: Similaridade estatística entre os 29
dois grupos avaliados. Grupo A, (placebo) e grupo B (fitoterápico), frente ao quadro de saúde geral.
- Figura 8 - Avaliação de Escala funcional, função orgânica: gráfico demonstra 30
diferença significativa entre grupo A (placebo) com maior index de problemas orgânicos, e grupo B (fitoterápico) com menor index de pontuação de alterações orgânicas.
- Figura 9 - Avaliação de Escala Funcional, funcionamento físico: gráfico 30
demonstra não haver diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B

(fitoterápico).

Figura 10 - Avaliação de Escala Funcional, funcionamento cognitivo, gráfico 31
demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B
(fitoterápico).

Figura 11 - Avaliação de Escala Funcional, função emocional: gráfico mostra não 31
haver diferença significativa entre os A (placebo) e B (fitoterápico).

Figura 12 - Avaliação de Escalas Funcionais, função social: grafico demonstra 32
não haver diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico).

Figura 13 - Avaliação de Escala de sintomas, fadiga. Gráfico demonstra que não 33
houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em
relação a fadiga.

Figura 14 - Avaliação de Escala de sintomas, dor. Gráfico demonstra que não 33
houve diferença significativa entre o grupo A (placebo) e o grupo B em relação a
sintomas de dor.

Figura 15 - Avaliação de Escala de sintomas, náusea e vômito, não apresenta 34
diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) no que diz
respeito a frequência de náusea e vômitos.

Figura 16 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, dispnéia. Gráfico 35
demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B
(fitoterápico) em relação a falta de ar.

Figura 17 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, insônia. Gráfico 35
demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B
(fitoterápico) quanto a insônia

Figura 18 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, perda de apetite. Gráfico 36

demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a falta de apetite.

Figura 19 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, constipação. Gráfico 36 demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a constipação intestinal.

Figura 20 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, diarreia. Gráfico 37 demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a incidência de diarreias.

Figura 21 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, dificuldades financeiras. 37 Gráfico demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a dificuldades financeiras.

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Pontuação OMI-20 para os grupos placebo e fitoterápico durante os diferentes tempos do tratamento. 26

Tabela 2 - Pontuação OMS para os grupos placebo e fitoterápico nos diferentes tempos do tratamento. 27

Tabela 3 - Pontuação RTOG para os grupos placebo e fitoterápico nos diferentes tempos do tratamento. 27

Tabela 4 - Pontuação da escala de dor para os grupos placebo e fitoterápicos nos diferentes tempos do tratamento. 27

Tabela 5 - Pontuação da escala de xerostomia para os grupos placebo e fitoterápicos nos diferentes tempos do tratamento. 28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	08
2. REVISÃO DA LITERATURA	09
2.1. XEROSTOMIA	09
2.2. MUCOSITE BUCAL	10
2.3. ETIOLOGIA DA MUCOSITE	11
2.4. MUCOSITE E XEROSTOMIA	11
2.5. PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA XEROSTOMIA	11
2.6. PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MUCOSITE	13
2.4. <i>Mikania laevigata</i> E SUAS ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS	14
3. HIPÓTESE	16
4. OBJETIVOS	16
5. MATERIAIS E MÉTODOS	16
5.1. COLETA, SECAGEM E ARMAZENAMENTO DO MATERIAL VEGETAL	16
5.2. PREPARO DO EXTRATO AQUOSO DE <i>Mikania laevigata</i>	17
5.3. PREPARO DO PLACEBO	18
5.4. IDENTIFICAÇÃO DOS FRASCOS	18
5.5. CONTROLE MICROBIOLÓGICO	18
5.6. CONTROLE DE QUALIDADE QUIMICO	19
5.7. ATENDIMENTO CLÍNICO	19
5.7.1. Aspectos Éticos	19
5.7.2. Critérios de Inclusão, Não-inclusão e Exclusão	19
5.7.3. Alocação Aleatória	20
5.7.4. Protocolo Tratamento Radioterápico	20
5.7.5. Protocolo de Avaliação da Atividade do Extrato Aquoso	21
5.7.6. Protocolo de Avaliação Periódica	22
5.7.6.1. Coleta de Dados Clínicos	22
5.7.6.2. Avaliação da Mucosite e Xerostomia	22
5.7.6.3. Avaliação da Qualidade de Vida	23
5.7.7. Banco de Dados e Armazenamento	23
5.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	24
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24

7. CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS	44
ANEXO 1- Termo de consentimento Livre e Esclarecido	46
ANEXO 2 - Twenty-items Oral Mucositis Index (OMI-20)	49
ANEXO 3 - Escala da Organização Mundial da Saúde (OMS)	52
ANEXO 4 - Acute Radiation Morbidity Scoring Criteria	53
ANEXO 5 - Escala Visual Analógica de Dor e Xerostomia	54
ANEXO 6 - Escala de Qualidade de Vida de Karnofsky	55
ANEXO 7 - Escala de Qualidade de Vida QLQ-C30 + H&N-C35	56
ANEXO 8 - Ficha de coleta de dados clínicos	57

1. INTRODUÇÃO

A mucosite bucal e a xerostomia são complicações frequentes em indivíduos submetidos à radioterapia de cabeça e pescoço, sendo decorrentes da intensidade da radiação ionizante que atinge os tecidos. Dependendo de sua severidade podem comprometer ou impossibilitar a alimentação e a deglutição destes pacientes, debilitando o indivíduo, dificultando sua recuperação ou impedindo a continuidade do tratamento.

A patogênese da mucosite bucal e da xerostomia, induzidas por radioterapia, é resultado de efeitos diretos e indiretos do tratamento. A injúria causada diretamente à mucosa e ou às glândulas salivares pela radiação ionizante, com duração de 5 a 35 dias em média, interrompe a renovação do tecido epitelial e glandular.

Os efeitos indiretos são decorrentes de uma interação com mediadores do processo inflamatório, da neutropenia induzida pela radioterapia, da diminuição dos constituintes salivares e da proliferação de bactérias, fungos e vírus que prejudicam a mucosa, o que contribui para o estabelecimento da mucosite e da xerostomia.

Por serem consequência do tratamento radioterápico e por sua importância para a qualidade de vida e para recuperação de pacientes em tratamento do câncer, a mucosite e a xerostomia têm sido alvo de extensas pesquisas que objetivam a sua prevenção.

Muitas substâncias têm sido utilizadas no tratamento profilático para ambas as sequelas, entre elas: gluconato de clorexidina, peróxido de hidrogênio, xylocaína, bicarbonato de sódio, antibióticos e extratos vegetais. Além disso, existem estudos com laser de baixa intensidade e acupuntura. Diversos produtos já foram avaliados para seu tratamento e prevenção, muitos não tiveram eficácia comprovada ou apresentaram efeito apenas paliativo. Outros com atividade comprovada são demasiadamente onerosos para a maior parte dos serviços de saúde.

O uso de extratos vegetais com fins terapêuticos é uma das mais antigas formas de medicina da humanidade. Plantas medicinais possuem substâncias bioativas com diversos efeitos farmacológicos e têm sido alvo de pesquisa por ser uma fonte potencial de novas drogas. *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker (Asteraceae), popularmente conhecida como “guaco”, é uma espécie encontrada especialmente nas regiões sul e sudeste do Brasil. As folhas de *Mikania laevigata* são utilizadas popularmente como anti-ulcerogênico, anti-inflamatório, antimicrobiano e para o tratamento de infecções do sistema respiratório.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. XEROSTOMIA

A xerostomia radio-induzida é um efeito colateral tão prevalente quanto a mucosite em indivíduos irradiados nas áreas de cabeça e pescoço. É descrita como o sintoma subjetivo da sensação de boca seca resultante da falta de saliva e é também considerada uma doença multifatorial (PINNA et al., 2015). A secura bucal é resultante da lesão das glândulas salivares decorrente da radiação ionizante (RADVANSKY, et al. 2013).

A diminuição do fluxo salivar causa além de sensação de boca seca, ardência, diminuição do paladar, dificuldade na deglutição e na fala. A mucosa seca fica friável e suscetível a traumas e irritações. A xerostomia predispõe os pacientes a cáries dentais, doenças gengivais, mau hálito e a infecções oportunistas. A redução na qualidade de vida, a dificuldade no uso de próteses removíveis e o aumento de custos também se relacionam a hipossalivação (GOOKIZADEH et al., 2012).

A saliva é um importante defensor da cavidade bucal e seus componentes interagem em funções correlatas: 1- Bicarbonatos, fosfatos e uréia agem modulando o pH bucal. 2- Proteínas e mucinas agregam e ou atacam microrganismos e contribuem para o metabolismo do biofilme dental. 3- Cálcio, fosfatos e proteínas modulam a desmineralização e remineralização dos dentes. 4- Imunoglobulinas, proteínas e enzimas tem ação antimicrobiana (PINNA et al., 2015).

O dano às glândulas salivares afeta a composição e as funções fisiológicas da saliva, reduz sua capacidade de tamponamento, sua atividade antimicrobiana e a habilidade de remineralização do esmalte dental (TURNER et al., 2014).

Baseado em um modelo de estudo em ratos, os danos glandulares radio induzidos podem ser divididos em 3 fases: Fase 1 - (0–10 dias): a excreção de água pela glândula é enfraquecido em 60%, mas não se observa perda de células tampouco diminuição da produção de amilase. Fase 2 - (10–120 dias): as membranas das células acinares sofrem danos que geram distúrbio nas rotas de secreção da água e da amilase. Fase 3 - (120–240 dias): danos tardios da radiação inibem a renovação celular e causam insuficiência tecidual quando o fluxo fica reduzido e a produção de amilase pode ficar comprometida e/ou deteriorada. Sugere-se que as células acinares novas não funcionam

apropriadamente, por consequência de danos aos dutos e aos micro vasos do tecido (KALUŻNY et al., 2013).

2.2. MUCOSITE BUCAL

A mucosite bucal é uma doença decorrente dos tratamentos radioterápicos e quimioterápicos em pacientes com câncer. É definida como uma inflamação e ulceração da mucosa bucal com formação de pseudomembrana, um exsudato fibrinoso infectado por bactérias (NICOLATOU-GALITIS et al., 2011). Também pode ser definida como uma inflamação decorrente da radioterapia, costumando ser dolorosa e incapacitante (HOFFMAN et al., 2014). Sendo o câncer uma doença neoplásica maligna e a segunda doença que mais causa mortes no mundo, a mucosite pode ser considerada tão frequente quanto o câncer em si, nos pacientes em tratamento (VOLPATO et al., 2007).

Pacientes portadores de neoplasias de cabeça e pescoço, invariavelmente receberão tratamento radioterápico, dentre eles, praticamente todos apresentarão algum grau de mucosite durante a radioterapia (FREITAS et al., 2011). Diversas complicações bucais costumam decorrer à radioterapia, como candidíases, dor, disgeusia (diminuição do senso de paladar), disfagia (dificuldade de deglutição) e xerostomia (diminuição da produção de saliva). Porém há um consenso de que dentre estas patologias, a mucosite é a mais frequente e debilitante (WONG, 2014). McGuire et al. (2002) sugerem que a mucosite pode ser uma doença multi-fatorial resultante da complexa cadeia de eventos biológicos associados a fatores clínicos e ambientais, sendo assim parte de um ciclo, no qual cada fator de desequilíbrio contribui para a sua etiologia.

A mucosite pode ser um fator negativo no sucesso dos tratamentos do câncer, diminuindo a qualidade de vida e dificultando a recuperação destes pacientes (WONG, 2014; COLLEY et al., 2013). Também está comumente associada a sintomas de depressão, ansiedade e dificuldade para dormir (FREITAS et al., 2011). Frequentemente se faz necessário interromper o tratamento radioterápico em virtude da mucosite, limitando a eficácia da terapia e aumentando os custos do tratamento, pois há o envolvimento do uso de medicação, sondas naso-gástricas e até internações (HADJIEVA et al., 2014).

Por muito tempo acreditava-se que a mucosite rádio-estimulada afetava unicamente o tecido epitelial, porém análises por microscopia eletrônica sugerem que alterações do tecido endotelial e conjuntivo, precedem às injúrias observadas no epitélio. Também há

evidências de que o endotélio vascular, as plaquetas e os fatores de risco genético estejam diretamente envolvidos na patogênese da mucosite bucal (HOFFMAN et al., 2014).

2.3. ETIOLOGIA DA MUCOSITE

Por ser uma doença multifatorial, a mucosite é decorrente não somente das injúrias causadas diretamente às células epiteliais submetidas à radioterapia. Mas também é resultante de danos indiretos, possivelmente desencadeados por estresse oxidativo que alavancam danos aos demais tecidos da mucosa, ao DNA e a matriz extracelular. (SONNIS et al., 2004a). A ativação de enzimas e fatores de transcrição levam a sobre-regulação de genes codificadores de citocinas inflamatórias que, por sua vez, atingem a submucosa e o epitélio basal, resultando em danos teciduais. Subsequentemente, há a ulceração e colonização bacteriana, alimentando um ciclo inflamatório vicioso, mediado por citocinas. A fase de cura da mucosite envolve sinalização via matriz extracelular, resultando em proliferação do epitélio e restabelecimento da barreira da mucosa (SONNIS, 2013).

Em trabalho realizado por Sonnis et al., (2004b) foi demonstrado que a patogênese da mucosite advém de uma cadeia de eventos simultâneos envolvendo não somente o tecido epitelial, mas também, todas as células e tecidos da mucosa bucal incluindo a matriz extracelular. Para ilustrar a progressão da mucosite, tais autores dividiram o desenvolvimento da lesão em cinco fases: 1- iniciação (a liberação de oxigênio reativo induz a formação da lesão, danificando toxicamente os tecidos); 2- regulação e geração de sinais mensageiros (oxigênio reativo causa danos ao DNA levando a apoptose e injúria tecidual); 3- sinalização e amplificação (liberação de citocinas pró-inflamatórias); 4- ulceração (dano tecidual visível, infiltrado inflamatório e colonização por bactérias) e 5- cicatrização.

2.4. MUCOSITE E XEROSTOMIA

A xerostomia e a mucosite inter-relacionam-se, pois além dos aspectos histológicos da mucosite, a ausência de fluxo salivar impede a lubrificação da mucosa facilitando a ocorrência de traumas físicos ao tecido. Além disto, a xerostomia causa um desequilíbrio na microflora bucal, uma vez que a saliva contém enzimas e anticorpos essenciais para a manutenção e regulação da saúde bucal (BORAKS, 2001). Tal desequilíbrio faz com que

infecções fúngicas e/ou bacterianas sejam frequentemente correlacionadas à mucosite (NICOLATOU-GALITIS et al., 2011).

Os microrganismos presentes na boca além de agravar as lesões da mucosite, causar cáries e inflamações periodontais, podem adentrar a circulação sanguínea, causando infecções secundárias e predispondo indivíduos imunossuprimidos a bacteremias (SONIS et al., 2004b; BONAN et al., 2005; JABER et al., 2007).

2.5. PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA XEROSTOMIA

A prevenção da xerostomia se faz principalmente modulando-se a intensidade das frações da radiação ionizante quando esta afeta diretamente a região das glândulas salivares e também, quando possível, evitando-se que as glândulas sejam diretamente atingidas pela ionização (ZHANG et al., 2014).

Alguns autores relataram bons resultados na prevenção da hipossalivação, utilizando método cirúrgico de transferência da glândula submandibular para o espaço submentoniano. Porém tal tratamento é considerado traumático e muitas vezes recusado pelos pacientes (SAIBISHKUMAR et al., 2007).

O tratamento da xerostomia correlaciona-se com a existência de fluxo salivar remanescente ou não. Em caso de diminuição do fluxo salivar o tratamento deverá estimular a produção de saliva pelo próprio organismo. Já em casos de perda total de produção de saliva, o tratamento objetiva a reposição da secreção lubrificante por uma solução artificial. De toda forma o controle do estado da saúde bucal e o tratamento de possíveis cáries e infecções devem ser concomitantes ao tratamento de escolha (PINNA et al., 2015).

A aminofostina, uma droga radioprotetora, também utilizada no tratamento da mucosite, foi efetiva em minimizar a hipossalivação durante a radioterapia, pois teve ação protetora para as glândulas salivares (BARDET et al., 2010). Outra substância importante no tratamento da xerostomia é o alcaloide pilocarpina, um agonista colinérgico atualmente o único sialogogo aprovado pela FDA. A substância cevimelina também apresenta ação agonista colinérgica e, portanto efeito benéfico na estimulação das glândulas salivares. (KALUŽNY et al., 2013).

Substitutos salivares objetivam imitar as funções lubrificante, hidratante e antimicrobiana da saliva natural. São compostos com carboxicelulose, mucinas, sorbitol,

xylitol®, sais minerais, fluoretos e preservativos (RADVANSKY et al., 2013). A utilização de saliva artificial permite alívio transitório da secura bucal facilitando a mastigação, a ingestão de alimentos e a fala (TURNER et al., 2014). Além disso, balas e chicletes sem açúcar e com xylitol® são recursos não farmacêuticos usados para estimular a salivação durante e depois da radioterapia (WONG, 2014).

2.6. PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MUCOSITE

A implantação de protocolos eficazes e viáveis para prevenção e tratamento da mucosite tem sido um desafio para equipes de saúde em todo mundo. Assim, produtos ou metodologias são intensamente pesquisados objetivando o controle ou erradicação da mucosite (HADJIEVA et al., 2014).

No que diz respeito à prevenção da mucosite, cuidados básicos de higiene, utilização de escovas macias, o não uso de próteses removíveis e visitas regulares ao dentista podem colaborar para o não aparecimento das lesões (BRODY et al., 2013). Embora bochechos com bicarbonato de sódio, solução salina e clorexidina sejam frequentemente indicados, não há dados suficientes que comprovem a efetividade terapêutica destes produtos e portanto seu uso não é justificado (LALLA et al., 2014). Peróxido de hidrogênio, suspensões com magnésio, com hidróxido de alumínio e nistatina também já foram avaliados para tratamento da mucosite, apresentando resultados pouco consistentes (MC.GUIRE et al., 2013).

Outros produtos como analgésicos, anti-inflamatórios, modificadores de resposta biológica e citoprotetores também já foram avaliados frente à mucosite, com resultados que não sugeriram prevenção ou melhora nos quadros da doença. (HOFFMAN et al., 2014).

Alguns estudos demonstraram que certos compostos ativos foram capazes de prevenir e tratar a mucosite, entre eles se destacaram Caphosol®, vasoconstritores, amifostina e palifermim.

O Caphosol® é uma solução neutra, supersaturada com fosfato de cálcio que apresentou ação reparadora de lesões de mucosite (QUINN, 2013). Os vasoconstritores de uso tópico (epinefrina, norepinefrina e noradrenalina) foram eficientes na prevenção da mucosite (SOREF; FAHL, 2014). A amifostina que é um citoprotetor anti-oxidante também teve ação preventiva para mucosite e o palifermim, um fator de crescimento

humano, foi capaz a reduzir a duração e a severidade das mucosites (GEORGIOU et al., 2012).

Além de tratamentos químicos, técnicas complementares como musicoterapia, relaxamento, massagem e acupuntura, também foram avaliados, apresentando resultados inconsistentes, portanto, inadequados para se estabelecer uma rotina terapêutica (FREITAS et al., 2011).

Outra abordagem terapêutica é a utilização de laser de baixa intensidade que já foi extensivamente pesquisado na prevenção e cura da mucosite, demonstrando ações anti-inflamatória, analgésica, bio-moduladora e anti-oxidante (OTON-LEITE et al., 2013). O uso profilático de laser se mostrou eficaz na prevenção e no tratamento da mucosite severa, melhorando também a qualidade de vida dos pacientes (LINO et al., 2011; ANTUNES et al., 2013).

Outra linha de pesquisa é a dos medicamentos fitoterápicos, que em geral apresentam como vantagem reduzido efeito colateral quando comparado com medicamentos sintéticos. Extratos ou compostos isolados de plantas têm potencial antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatório, cicatrizante, radioprotetor e imunoestimulante, podendo ser úteis na investigação quanto a ação de prevenção e tratamento da mucosite (RAO et al., 2013).

Diversas plantas medicinais já foram avaliadas para a prevenção e o tratamento da mucosite e de afecções relacionadas a cavidade bucal. De acordo com revisão de literatura, as espécies vegetais *Althaea officinalis*, *Calendula officinalis*, *Malva sylvestris*, *Plantago major*, *Punica granatum* e *Salvia officinalis*, foram as mais citadas em levantamento etnobotânico por apresentarem atividades anti-inflamatória e antimicrobiana (OLIVEIRA et al., 2007).

Apesar das inúmeras pesquisas realizadas e das diversas metodologias avaliadas, observa-se a falta de um tratamento para a mucosite que seja padronizado nos serviços de radioterapia (CAMPOS et al., 2014).

2.7. *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker e suas atividades farmacológicas

O gênero *Mikania*, pertence à família Asteraceae, tem cerca de 430 espécies distribuídas principalmente na América do Sul. No Brasil, está representado por aproximadamente 171 espécies que ocorrem de norte a sul, tendo sua principal área de

dispersão nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (BUDEL et al., 2008, BARATTO et al., 2008). Dentre elas, a espécie *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker, uma liana, conhecida popularmente como ‘guaco-cheiroso’ ou ‘guaco-do-mato’, é facilmente encontrada (FERREIRA; OLIVEIRA, 2010).

Mikania laevigata Schultz Bip. ex Baker é um sub-arbusto trepador que apresenta caule cilíndrico e lenhoso (GASPARETTO et al., 2009). É uma das principais espécies de plantas medicinais usadas devido a suas propriedades antisséptica, expectorante, antiasmática e antirreumática (BARATTO et al., 2008). A espécie está incluída na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde (RENI-SUS), que integra o Programa Nacional de Plantas Medicinais do Ministério da Saúde, objetivando estimular o uso de plantas medicinais nos níveis de atenção básica à saúde (FERREIRA; OLIVEIRA, 2010).

O marcador químico descrito para a espécie *Mikania laevigata* é a cumarina (1,2-benzopirona), sendo que a substância deve estar presente nas folhas de *Mikania laevigata* na concentração mínima de 0,1% (Farmacopéia Brasileira, 2005). A cumarina é a substância majoritária nas folhas de *M. laevigata* (BOLINA et al., 2009). Além desta outros compostos já foram identificados e isolados, entre eles: sesquiterpenos e diterpenos e flavonoides (YATSUDA et al., 2005; FERREIRA; OLIVEIRA, 2010). Acredita-se que a interação entre diferentes classes de compostos químicos seja responsável pela atividade medicinal da *Mikania laevigata* (PEDROSO et al., 2008; RUFFATO et al., 2013).

Diversas atividades farmacológicas de *M. laevigata* já foram comprovadas tais como anti-inflamatória, antimutagênica, antimicrobiana (BARATTO et al., 2008; BUDEL et al., 2009), antiespasmódica, sudorífera, antisifilítica, tônica, depurativa, balsâmica, estimulante do apetite, antipirética, antiofídica, no tratamento de artrite, nevralgias, picadas de escorpião, eczema pruriginoso, de gripes, doenças respiratórias em geral e inflamações da garganta (BIGHETTI et al., 2005; NAPIMOGA; YATSUDA, 2010).

Segundo Yatsuda et al. (2005), os extratos etanólicos, frações hexânicas e acetatos de etila de *Mikania laevigata* demonstraram capacidade notável de inibir a aderência e o crescimento de células de *Streptococcus mutans* a uma superfície de vidro.

Benatti et al. (2011) demonstraram que o extrato hidro-alcoólico de *Mikania laevigata* apresentou atividade anti-inflamatória em modelos de peritonite em ratos. O extrato de *M. laevigata* e a cumarina isolada interferiram na migração de neutrófilos,

demonstrando potencial anti-inflamatório e sugerindo que a cumarina possa ser a responsável por tal atividade (ALVES et al., 2009).

O Extrato hidro-alcoólico de *Mikania laevigata* apresentou efeito reparador, protetor e redutor na atividade genotóxica de quimioterápicos em células sadias (MAZZORANA et al., 2013). Além disso, apresentaram importante atividade antitumoral, inibindo a proliferação de células cancerosas (RUFFATO et al., 2013).

3. HIPÓTESE

Extrato aquoso de droga vegetal de *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker apresenta redução do sintoma de xerostomia e da mucosite.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos da aplicação tópica oral de um medicamento fitoterápico produzido a partir da droga vegetal de *M. laevigata* na profilaxia e no tratamento de xerostomia e mucosite e em pacientes submetidos à radioterapia.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

4.2.1. Produção do extrato aquoso de *Mikania laevigata*;

4.2.2. Preparo de uma solução placebo, que fosse idêntica ao medicamento vegetal em aspecto, coloração e esterilidade;

4.2.3. Dosagem do teor do marcador químico – cumarina – por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) no extrato aquoso de *Mikania laevigata*;

4.2.4. Avaliação da eficácia do uso oral do extrato aquoso de *Mikania laevigata* na incidência, grau e evolução das mucosites, bem como na xerostomia e qualidade de vida dos pacientes recebendo radioterapia de cabeça e pescoço.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. COLETA, SECAGEM E ARMAZENAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

Folhas de *Mikania laevigata* foram coletadas no Sítio Irmãs Marie nos meses de julho, agosto e setembro de 2012 em dias correspondentes a fase de lua cheia, no período da manhã, segundo metodologia proposta por Pereira et al. (2011). As folhas foram

lavadas e secas por 36 horas em estufa de ar circulante a 45°C (Marconi®, MA 035), em seguida armazenadas em sacos de papel, pesadas, e divididas em cinco lotes, que permaneceram estocados em temperatura ambiente (Figura 1). Uma exsicata foi confeccionada e depositada no Herbário da Universidade de Ribeirão Preto (Voucher: 1481).

Figura 1 - Preparo do Material vegetal de *Mikania laevigata* A-Folhas Coletadas, B- Folhas depositadas em estufa de ar circulante, C-Folhas secas, pesadas e armazenadas. Fonte: Arquivo Pessoal.



5.2. PREPARO DO EXTRATO AQUOSO DE *Mikania laevigata*

A produção do extrato aquoso de *Mikania laevigata* utilizado como o medicamento fitoterápico deste estudo, foi realizada com folhas secas da planta, moídas em moinho de facas (Marconi®) a 40 mesh, vertidas em água em ebulição, na proporção de 20 g de droga vegetal moída para 1 L de água destilada e autoclavada. A droga vegetal permaneceu em maceração por 15 minutos e foi filtrada em funil de Buchner. Ao extrato aquoso obtido, adicionou-se solução de 0,2 % (p/v) de Nipagim®. Alíquotas de 180 mL do medicamento fitoterápico foram envasados em frascos de vidro âmbar de 200 mL, fechados com tampas de rosca com lacre e autoclavados por 15 min a uma pressão de 1 atm (Figura 2). Estes frascos permaneceram em ambiente climatizado 18°C durante todo o tempo do ensaio clínico.

Figura 2 – Etapas do preparo do extrato aquoso de *Mikania Laevigata*. A – Folhas secas vertidas em água. B – Extrato após filtragem simples. C – Filtragem em funil Buchner. D - Envasamento. Fonte: Pessoal.



5.3. PREPARO DO PLACEBO

O placebo foi preparado a partir de solução aquosa com corante alimentício marrom chocolate (Mix Coralim[®]) (90 mL) e corante marrom (Mago[®]) (20 mL) em 120 L de água destilada e autoclavada. A seguir foi adicionada solução de Nipagin[®] a 0,2% à solução que foi autoclavada.

Alíquotas de 180 mL do placebo foram envasadas em frascos de vidro âmbar de 200 mL e fechados com tampas de rosca com lacre e autoclavados por 15 min a uma pressão de 1 atm. Estes frascos permaneceram em ambiente climatizado à 18°C durante todo o tempo do ensaio clínico.

5.4. IDENTIFICAÇÃO DOS FRASCOS

Um técnico do laboratório de fitoquímica do Departamento de Biotecnologia de Plantas Medicinas, desta universidade, aleatoriamente distribuiu em dois grupos os frascos contendo medicamento e placebo. Os frascos foram identificados como grupo A ou B, de forma que os pesquisadores e pacientes envolvidos na pesquisa desconheciam o conteúdo administrado. O envelope contendo a identidade dos frascos permaneceu lacrado até o final da pesquisa.

5.5. CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO

Para avaliação do controle de qualidade microbiológico dos extratos produzidos, alíquotas de 1 mL das amostras foram plaqueadas em meio de cultura SAB (Sabouraud) e TSA (Tryptone Soya Agar). Após incubação por 24 horas a 37°C em estufa bacteriológica, (Marconi), realizou-se a leitura. Os testes foram realizados em triplicata.

5.6. CONTROLE DE QUALIDADE QUÍMICO

Foi avaliado o teor de cumarina do extrato aquoso de *M. laevigata* autoclavado, usado como bochecho pelos pacientes e também do mesmo extrato aquoso não autoclavado, para fins comparativos. Os extratos foram liofilizados.

O controle de qualidade químico foi realizado empregando-se Cromatografia Líquida de Alta Eficiência a partir do marcador cumarina Equipamento Shimadzu (Kyoto, Japan) model LC-10-AVP equipado com auto injetor SIL-10AF com detector DAD SPD-M20A e coluna LC18-Supelcosil (250 x 4,6 mm; 5µm de partícula) de acordo com a metodologia desenvolvida por Pereira et al. (1998). A curva padrão foi realizada com cumarina (Sigma®) nas concentrações 0,031; 0,062; 0,125; 0,250; 0,500; 1,00 mg.mL⁻¹.

5.7. ATENDIMENTO CLÍNICO

5.7.1. Aspectos Éticos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP).

Todos os pacientes foram convidados a participar e esclarecidos quanto à natureza experimental do trabalho e à sua livre escolha em aceitar a inclusão, também foram esclarecidos quanto à segurança do seu uso em diversas formas farmacêuticas. O consentimento do paciente foi obtido através da assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as normas vigentes (Resolução CNS 196/96) (Anexo 1). O uso de placebo foi determinado por não haver até o presente momento um tratamento padrão de eficácia comprovada para o tratamento de mucosite.

5.7.2. Critérios de Inclusão, Não Inclusão e Exclusão

Os pacientes participantes deste estudo foram atendidos no Serviço de Radioterapia do HCFMRP-USP, sob supervisão do Prof. Dr. Harley Francisco de Oliveira.

Foram triados para participar da pesquisa, pacientes com diagnóstico de câncer de cabeça e pescoço com plano de tratamento radioterápico envolvendo a mesma região, segundo os seguintes parâmetros:

Critérios de Inclusão: Idade maior do que 18 anos, diagnóstico de neoplasia maligna, estar iniciando o tratamento radioterápico de cabeça e pescoço, índice acima de 70% na tabela de qualidade de vida de Karnofsky.

Critérios de Não-Inclusão: Gestação ou lactação, história conhecida de hipersensibilidade à *M. laevigata* ou quaisquer de seus componentes, pacientes fazendo uso de anticoagulantes por estes poderem ser potencializados pelos ativos químicos de *M. laevigata*.

Critérios de Exclusão: Desenvolvimento de hipersensibilidade à *M. laevigata*, aparecimento de sintomas adversos ou disfunção orgânica, solicitação do paciente a qualquer momento do estudo.

5.7.3. Alocação Aleatória

Os pacientes foram alocados aleatoriamente em dois grupos, denominados grupo A e grupo B. Para isso foi utilizado um programa para arquivo de dados (www.redcap.com), que após a inclusão do paciente, randomizava os dados sorteando o grupo de estudo para cada paciente.

5.7.4. Descrição do Protocolo de Tratamento Radioterápico

Os pacientes realizavam Radioterapia Conformacional (RT3D) ou Radioterapia por Intensidade Modulada (IMRT). Para este planejamento, a imagem realizada por Tomografia Computadorizada (TC) (Philips Brilliance CT Big Bore, Philips Medical Systems, UK) foi enviada via protocolo DICOM ao sistema de planejamento CMS/XiO versão 4.51.02 (Elekta Inc., Stockholm, Sweden). Quando necessário o co-registro de imagens com Ressonância Magnética (RM), foi realizado na mesma semana de planejamento em equipamento RM 3 tesla (Intera 3T, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands). Foi realizada a segmentação das estruturas anatômicas normais próximas, denominadas órgãos de risco, e os volumes alvo, definida pelo volume tumoral grosseiro (GTV) e margens para o volume tumoral planejado (PTV). A radioterapia externa fracionada, quando por RT3D, foi realizada com técnica de campos paralelos e opostos látero-lateral, e campo direto em fossa supraclavicular (FSC). Para IMRT, uma composição de sete campos coplanares, otimizada pelo planejamento inverso IMRT, era

avaliada e escolhida aquela composição que apresentar melhor gradiente de dose e respeitando os limites de doses em órgãos de risco próximos ao volume alvo.

O fracionamento foi de 1,8 a 2,0 Gy por fração (1 fração por dia, 5 dias por semana), utilizando doses totais na primeira fase de tratamento de 45 a 50 Gy em 25 frações, prescritas a uma profundidade correspondente a linha media do paciente, para os campos laterais e na dose de máximo para o campo da FSC. Na segunda fase de tratamento, era prescrita dose de 20 a 25,2 Gy em 10 a 14 frações, também com 1,8 a 2,0 Gy por fração (1 fração por dia, 5 dias por semana) envolvendo apenas o volume alvo.

Os controles de qualidade (QA) foram analisados individualmente por sistema de arranjos de câmaras de ionização (MATRIX, MULTICube, eOMNIPRO I'MRT QA Software) (IBA Dosimetry, Bartlett, EUA) e aplicada a função gama entre os planos gerados pelo CMS/XiO e OMNIPRO, quando realizado IMRT. O aceite do tratamento foi permitido quando a função gama apresentou-se abaixo de 3%. Os tratamentos foram realizados em Acelerador Linear (AL) (ONCOR, Siemens, Alemanha), energia 6 MV, com multilâminas de 1 cm de espessura (MLC). A técnica de IMRT empregada foi a MLC estático, conhecida como “step-and-shoot”, que consiste em campos com diversos segmentos onde a liberação de dose é realizada apenas quando o *gantry* do AL está fixo em uma determinada posição.

5.7.5. Protocolo de Avaliação da Atividade do Extrato Aquoso de *Mikania laevigata*

Os pacientes foram atendidos e avaliados sempre pelo mesmo cirurgião dentista após as sessões de radioterapia no HCFMRP-USP.

Os pacientes foram orientados a usar o medicamento ou placebo da seguinte forma: abrir o frasco de solução A ou B preencher o copo-medida (30 mL) com o medicamento, bochechar por 1 minuto e descartar em seguida. Tal procedimento foi repetido 3 vezes ao dia, sempre após as refeições e posteriormente à higienização bucal com dentifício disponibilizado pelos pesquisadores (Creme dental Oral B Pró-Saúde).

Pelos riscos envolvidos com a evolução da mucosite, os pacientes participantes do estudo que apresentaram lesões sintomáticas de mucosite receberam o tratamento padrão preconizado pelo Serviço de Radioterapia do HCFMRP-USP (benzedamina associada à nistatina), juntamente com o tratamento proposto.

5.7.6. Protocolo de Avaliação Clínica Periódica

Os pacientes foram avaliados antes, durante e depois do tratamento radioterápico por um odontólogo (Carolina Della Torre Lima), em períodos determinados:

1. No dia do início do tratamento (1 dose);
2. Ao final da 2ª semana de tratamento (10 doses);
3. Ao final da 5ª semana de tratamento (25 doses);
4. Ao final da 7ª semana de tratamento (35 doses);
5. Duas semanas após o fim do tratamento;

Cada avaliação incluía a coleta de dados clínicos, exame bucal para avaliação da mucosite, aplicação do questionário de qualidade de vida, entrega e explicação sobre o uso do extrato de *Mikania laevigata*, com duração aproximada de 30 minutos.

5.7.6.1. Coleta de Dados Clínicos

Foram coletadas informações demográficas (idade, sexo, etnia), antropométricas (peso, altura, índice de massa corporal) e clínicas (tempo de diagnóstico, complicações da doença) em entrevista com o paciente (Anexo 8).

5.7.6.2. Avaliação da Mucosite e Xerostomia

A mucosite foi avaliada através da aplicação das escalas protocoladas que permitem controle e reprodutibilidade das observações: Oral Mucosites Index-20 (OMI-20), uma escala que avalia quatro tipos de alterações de mucosa em nove áreas anatômicas: atrofia (dorso de língua); edema (lateral de língua); eritema (mucosa labial superior e inferior, mucosa bucal direita e esquerda, assoalho da boca, palato mole, língua ventral, dorsal e lateral); e ulceração pseudomembranosa (mucosa labial superior e inferior, mucosa bucal direita e esquerda, assoalho da boca, palato mole, língua ventral, dorsal e lateral), num total de 20 itens (Anexo 2).

Também foi utilizada a escala da Organização Mundial da Saúde (OMS), onde é dada uma nota de 0 a 4, sendo: 0 (ausência de mucosite); 1 (dor, com ou sem eritema); 2 (eritema, úlceras; paciente consegue engolir sólidos); 3 (úlceras com eritema extenso, paciente não consegue engolir comida); 4 (Mucosite de tal grau que qualquer alimentação é impossível) (Anexo 3).

Para a avaliação da mucosite usou se também a tabela Acute Radiation Morbidity Scoring Criteria (RTOG/ECOG), com pontuação de 0 a 4, tendo que 0 (ausência de mucosite); 1 (dor leve não necessitando analgesia); 2 (mucosite heterogênea que pode causar secreção inflamatória serossanguínea, pode apresentar dor moderada necessitando analgesia); 3 (mucosite fibrinosa confluyente; pode apresentar dor intensa necessitando analgesia com opióides); 4 (ulceração, hemorragia ou necrose) (Anexo 4).

A avaliação da intensidade da sensação de dor e da xerostomia foi realizada com o uso de uma escala analógica com pontuação variando de 0 a 10 (sendo 0 ausência de sintoma e 10 pior sensação possível) onde o próprio paciente apontava a nota que considerava adequada. (Anexo 5).

5.7.6.3. Avaliação da Qualidade de Vida

A qualidade de vida (QV) foi avaliada através da escala QLQ-C30 (Quality of Life Questionnaire) com H&N-C35, específica para neoplasias de cabeça e pescoço (Anexo 7).

5.7.7. Banco de Dados e Armazenamento

Todos os dados foram anotados em formulários apropriados, para depois serem incluídos em um banco de dados eletrônico chamado REDCap (*Research Electronic Data Capture*), hospedado nos servidores do HC-FMRP-USP. O REDCap é uma aplicação segura, baseada na web, desenhado para auxiliar a coleta de dados em projetos de pesquisa, fornecendo: 1) uma interface intuitiva para entrada de dados com validação; 2) rastreamento de alterações, permitindo monitorizar alterações ou manipulações nos dados e procedimentos de exportação de dados; 3) procedimentos automatizados de exportação de dados diretamente para programas estatísticos comumente usados; e 4) procedimentos para importação de dados a partir de fontes externas. Uma lista com os dados pessoais identificáveis foi armazenada separadamente do banco de dados principal, em um computador protegido por senha, criptografado, situado em sala interna do HC-FMRP-USP trancada com chave, sob a responsabilidade do pesquisador Prof. Dr. Fabio Carmona. Essas informações foram apagadas ao término do estudo. Todas os formulários em papel foram destruídos depois de incluídos no sistema REDCap conforme preconizado por HARRIS et al. (2009).

5.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Considerando que as escalas de dor e xerostomia são representadas por variáveis de natureza quantitativa discreta, com amplitudes de zero a um valor fixo, modelos de regressão baseados na distribuição beta-binomial (GRIFFITHS, 1973) foram utilizados para comparações entre os grupos de tratamento. As variáveis de interesse com natureza binária, como a ocorrência ou não de mucosite, foram comparadas entre os grupos de tratamento por modelos de regressão logística com um efeito aleatório que correlaciona as observações longitudinais de um mesmo indivíduo ao longo do tempo. Este modelo permitiu estimar as proporções de indivíduos com alguma forma de mucosite em cada um dos tempos do estudo. Modelos de regressão beta (BRANSCUM; JOHNSON, 2007) foram utilizados para investigar a relação entre os escores EORTC QLQ-C30 e os tratamentos. Este modelo é aplicado a variáveis contínuas restritas ao intervalo (0,1). Efeitos aleatórios foram incluídos nos modelos para representar a dependência das observações ao longo do tempo. Os parâmetros de todos estes modelos foram estimados por métodos bayesianos, sendo as análises feitas no software OpenBugs (versão 3.2.1, MRC, Cambridge, UK), utilizando simulação Monte Carlo em cadeia de Markov (MCMC) e distribuições a priori não informativas (GELMAN et al., 2013).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato de *Mikania laevigata* autoclavado não apresentou contaminação por fungos ou bactérias. A análise quantitativa de cumarina por Cromatografia de Alta Eficiência (CLAE) permitiu verificar que a concentração de cumarina foi de 2,37 mg/g de peso seco para o extrato autoclavado, enquanto que para o extrato não autoclavado foi de 2,76 mg/g de peso seco, estes valores não apresentaram diferença estatística significativa. A concentração de cumarina do extrato de guaco utilizado neste ensaio clínico é 0,33 vezes superior à relatada por Santos et al., 2006 que foi de 2,06 mg/g de peso seco.

Figura 3 - Cromatograma do extrato aquoso de *M. laevigata* autoclavado obtido da CLAE.

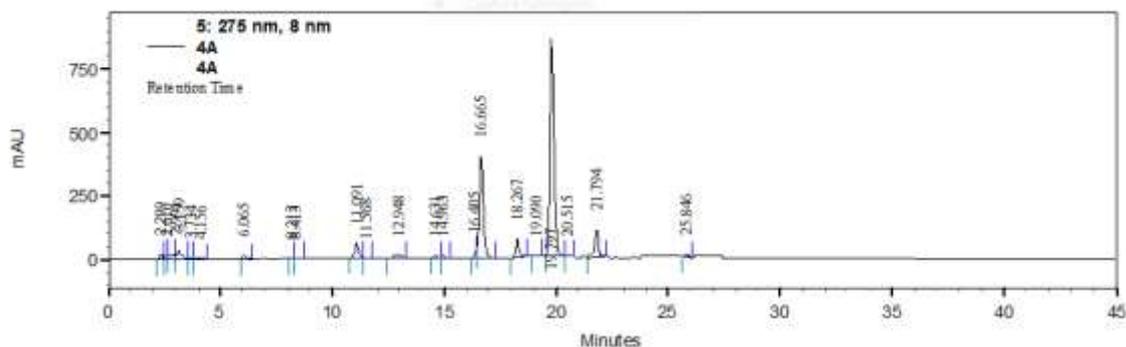
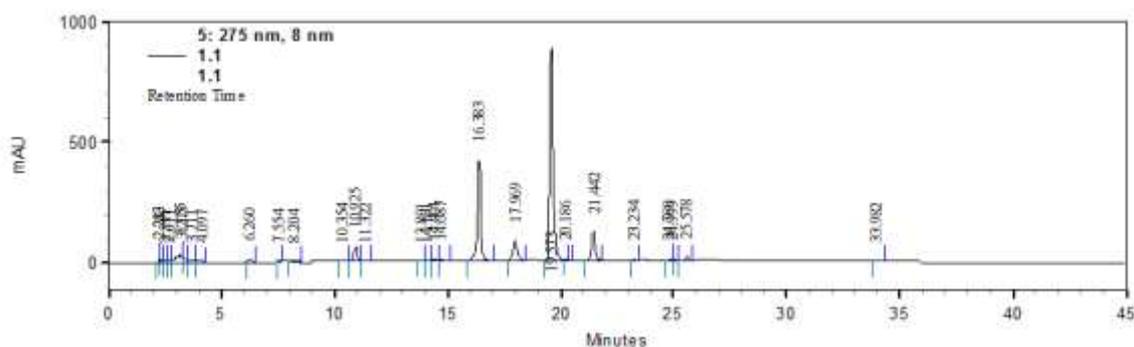


Figura 4 - Cromatograma do extrato aquoso de *M. laevigata* não autoclavado obtido da CLAE.



Quanto ao ensaio clínico foram incluídos neste estudo 29 pacientes no total. Dentre eles, 15 indivíduos foram alocados no grupo A (Placebo) e 14 indivíduos no grupo B (Fitoterápico). Durante o tratamento 3 pacientes de cada grupo abandonaram o estudo por solicitação dos mesmos.

Quanto à avaliação da Mucosite pela OMI-20, em nenhum momento do tratamento houve diferença estatística significativa entre os grupos tratados com placebo e extrato de *M. laevigata* na incidência de atrofia, eritema, edema e de úlceras de mucosite estabelecidas (Tabela 1). Tais resultados não corroboram com a atividade anti-ulcerogênica e anti-inflamatória de extratos de *M. laevigata*, já demonstradas por BIGUETTI et al., 2005; BENATTI et al., 2012; ALVES et al., 2009. Uma possível explicação para este fato pode ser a reduzida quantidade de pacientes incluídos nesta pesquisa, uma vez que tais indivíduos, já exauridos pela doença, muitas vezes não estavam aptos a aderirem a um tratamento experimental (Figuras 5 e 6).

Tabela 1 - Pontuação OMI-20 para os grupos placebo e fitoterápico durante os diferentes tempos do tratamento.

	Placebo		Fitoterápico		Diferença entre as médias	
	média	(IC 95%)	média	(IC 95%)	média	(IC 95%)
1°	2.233	(0.426 10.99)	1.835	(0.163 9.62)	-0.4514	(-8.884 7.301)
2°	8.582	(4.122 17.88)	8.761	(4.456 16.76)	0.1285	(-10.12 9.549)
5°	7.879	(4.395 15.32)	8.033	(4.404 15.65)	0.1988	(-7.781 8.176)
7°	10.47	(4.727 22.44)	5.462	(2.635 15.71)	-4.701	(-16.88 6.118)
2° após	3.973	(1.543 13.36)	3.698	(0.86 17.91)	-0.3501	(-9.804 13.93)

Figura 5 – Avaliação da Mucosite em Paciente tratado com Fitoterápico. Indivíduo ao final da quinta semana de tratamento (A) e ao final da sétima semana de tratamento (B).

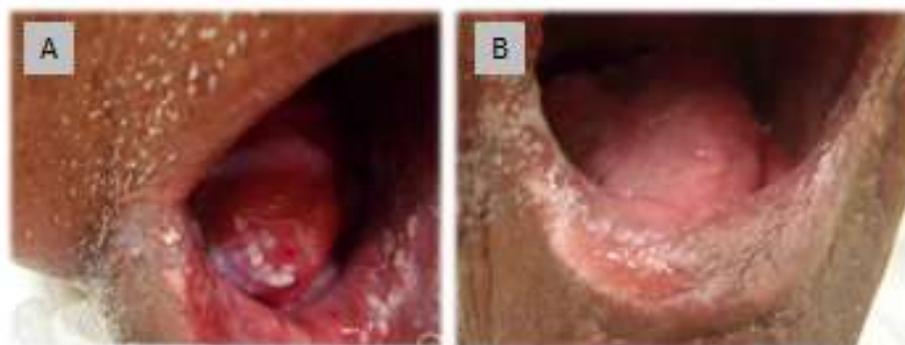
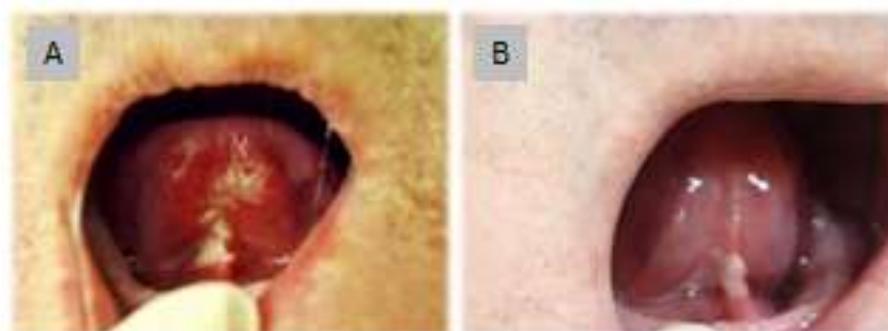


Figura 6 - Avaliação da Mucosite em Paciente tratado com Placebo. Indivíduo ao final da quinta semana de tratamento (A) e ao final da sétima semana de tratamento (B).



Na comparação de pontuação da escala de Mucosite da OMS, bem como na escala RTOG, também não houve diferença estatística na severidade da mucosite entre os grupos placebo e fitoterápico (Tabelas 2 e 3). Este resultado obtido a partir de extrato aquoso de guaco não corrobora com informações mencionadas em Formulário Fitoterápico utilizado

em programa de Farmácia Viva, o qual cita as ações anti-inflamatória e antisséptica da tintura de *Mikania laevigata* na cavidade bucal (PEREIRA et al., 2014).

Tabela 2 - Pontuação OMS para os grupos placebo e fitoterápico nos diferentes tempos do tratamento.

Grupo	Momento				
	1°	2°	5°	7°	2° após
Fitoterápico	0	41% (1 – 97%)	21% (1 – 90%)	1% (1 – 44%)	0
Placebo	0	14% (1 – 80%)	11% (1 – 76%)	6% (1 – 69%)	0

Tabela 3 - Pontuação RTOG para os grupos placebo e fitoterápico nos diferentes tempos do tratamento.

Grupo	Momento				
	1°	2°	5°	7°	2° após
Fitoterápico	0	68% (25 – 96%)	21% (1 – 61%)	1% (<1 – 3%)	0
Placebo	0	27% (1 – 68%)	22% (1 – 64%)	18% (<1 – 61%)	0

Quanto à pontuação na escala analógica para dor, igualmente, não foram observadas diferenças estatísticas na sintomatologia de dor entre os grupos avaliados (Tabela 4). O que é considerado um fator positivo, já que foi possível notar que o fitoterápico não causou ou aumentou o sintoma de dor para os pacientes que o utilizaram.

Tabela 4 - Pontuação da escala de dor para os grupos placebo e fitoterápicos nos diferentes tempos do tratamento.

	Placebo		Fitoterápico		Diferença entre as médias	
	média	(IC 95%)	média	(IC 95%)	média	(IC 95%)
1°	1,89	(0,76 3,70)	2,88	(1,31 4,66)	-0,99	(-3,32 1,21)
2°	2,48	(0,96 4,18)	3,24	(1,62 5,22)	-0,75	(-3,51 1,73)
5°	2,51	(1,15 4,28)	3,54	(1,83 5,56)	-1,03	(-3,40 1,43)
7°	1,41	(0,18 3,73)	2,88	(1,21 5,31)	-1,46	(-4,10 1,10)
2° após	0,93	(0,11 2,66)	1,27	(0,12 3,63)	-0,34	(-2,77 1,83)

Em relação à escala analógica para xerostomia, observou-se que as médias de pontuação na escala de sintomas foram estatisticamente significativas e sempre menores para o grupo que utilizou o extrato de *M. laevigata*, mostrando que houve uma redução na intensidade de sintomas de xerostomia (Tabela 5). Há apenas um trabalho clínico que

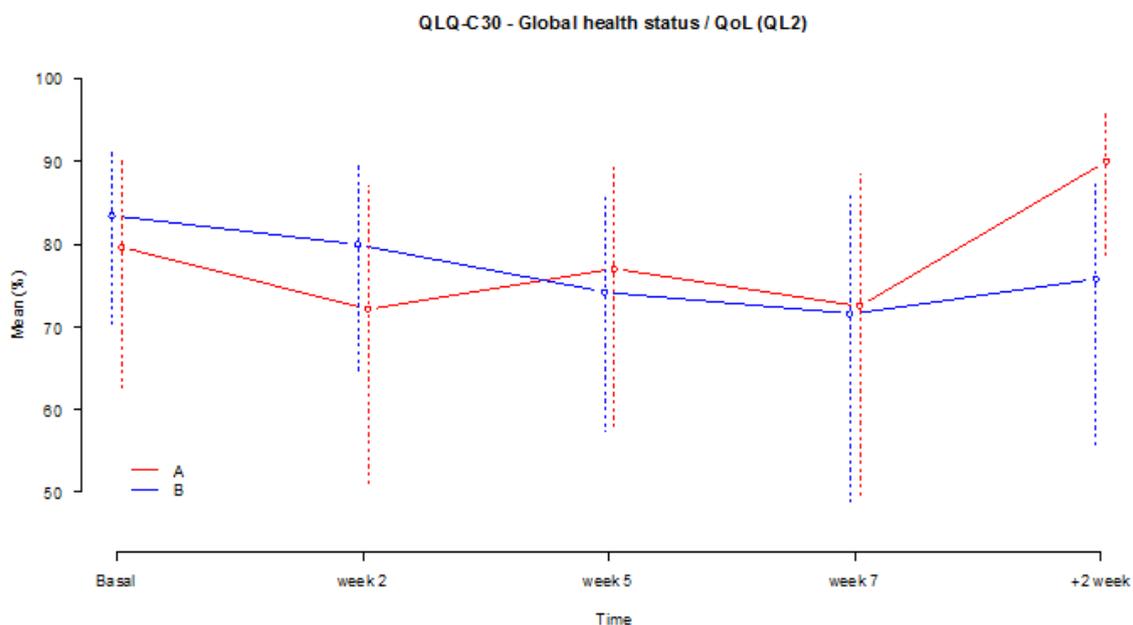
relata o uso de uma associação de cumarina e flavonoide em pacientes com radioxerostomia. Neste trabalho o número de pacientes não foi suficiente para comprovar estatisticamente a efetividade terapêutica, embora tenha sido observado uma maior eficácia da associação em relação ao placebo (GROTZ et al., 1999). Dentre os metabólitos secundários produzidos por plantas há um alcaloide denominado pilocarpina, produzido por espécies do gênero *Pilocarpus*, que é consagradamente utilizado no tratamento para xerostomia reconhecido pela Sociedade Americana de Oncologia Clínica (The American Society of Clinical Oncology- ASCO) (KALUŽNY et al., 2014).

Tabela 5 - Pontuação da escala de xerostomia para os grupos placebo e fitoterápicos nos diferentes tempos do tratamento.

	Placebo			Fitoterápico			Diferença entre as médias		
	média	(IC 95%)		média	(IC 95%)		média	(IC 95%)	
1°	2.32	(0.92	4.18)	1.84	(0.75	3.41)	0.48	(-1.60	2.66)
2°	4.42	(2.60	6.28)	2.14	(0.87	3.94)	2.28	(-0.27	4.59)
5°	3.64	(1.73	5.89)	3.13	(1.63	5.00)	0.50	(-2.20	3.17)
7°	4.68	(2.52	7.01)	1.76	(0.36	4.17)	2.92	(-0.29	5.77)
2° após	3.11	(1.31	5.39)	1.51	(0.30	3.84)	1.60	(-1.25	4.30)

Quanto à verificação de índices de qualidade de vida, utilizando se como referência o questionário QLQ-C30 para avaliação do estado de saúde geral dos indivíduos, observou-se que não houve diferenças significativas entre os grupos avaliados (Figura 7), demonstrando que o uso do fitoterápico não interferiu no quadro geral de saúde destes pacientes.

Figura 7 - Avaliação do Estado Geral de Saúde: Similaridade estatística entre os dois grupos avaliados. Grupo A, (placebo) e grupo B (fitoterápico), frente ao quadro de saúde geral.



Avaliando-se os itens do questionário QLQ-C30, relacionados às escalas de funções: relacionadas ao trabalho, físicas, cognitivas, emocionais e sociais, observou-se diferença estatística somente em relação às funções relacionadas ao trabalho, demonstrando que o grupo que fez uso do extrato fitoterápico teve melhor possibilidade de manter suas rotinas de trabalho do que o grupo placebo (Figura 8). Em relação aos outros critérios funcionais não houve diferenças significativas entre os grupos (Figuras 9, 10, 11 e 12).

Figura 8 - Avaliação de Escala funcional, função relacionada ao trabalho: gráfico demonstra diferença significativa entre grupo A (placebo) com maior index de problemas orgânicos, e grupo B (fitoterápico) com menor índice de pontuação de alterações orgânicas.

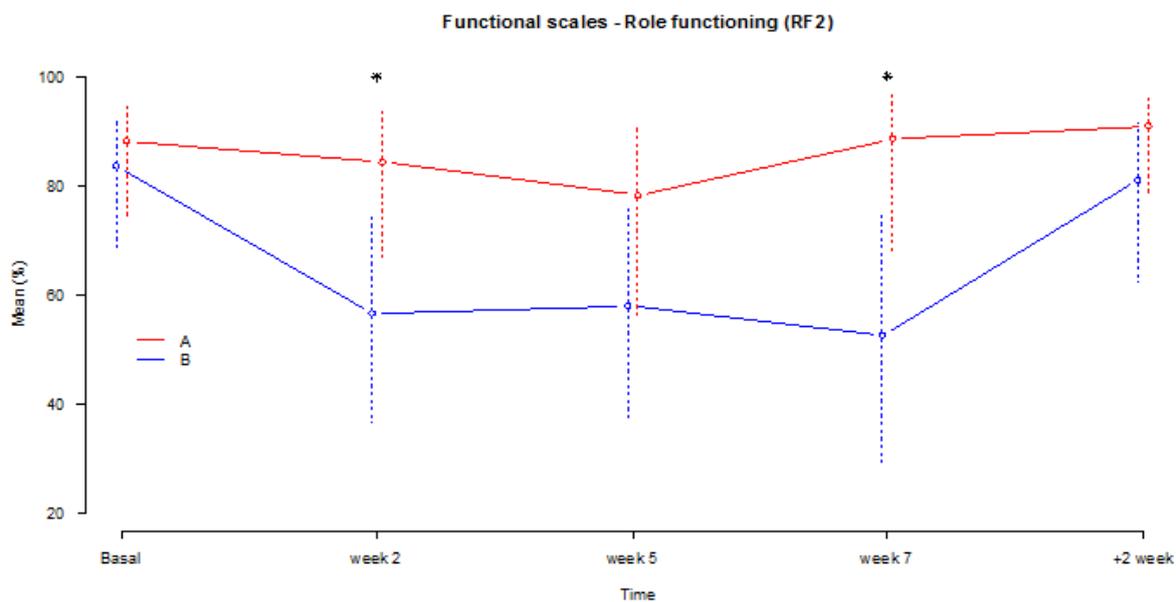


Figura 9 - Avaliação de Escala Funcional, funcionamento físico: gráfico demonstra não haver diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico).

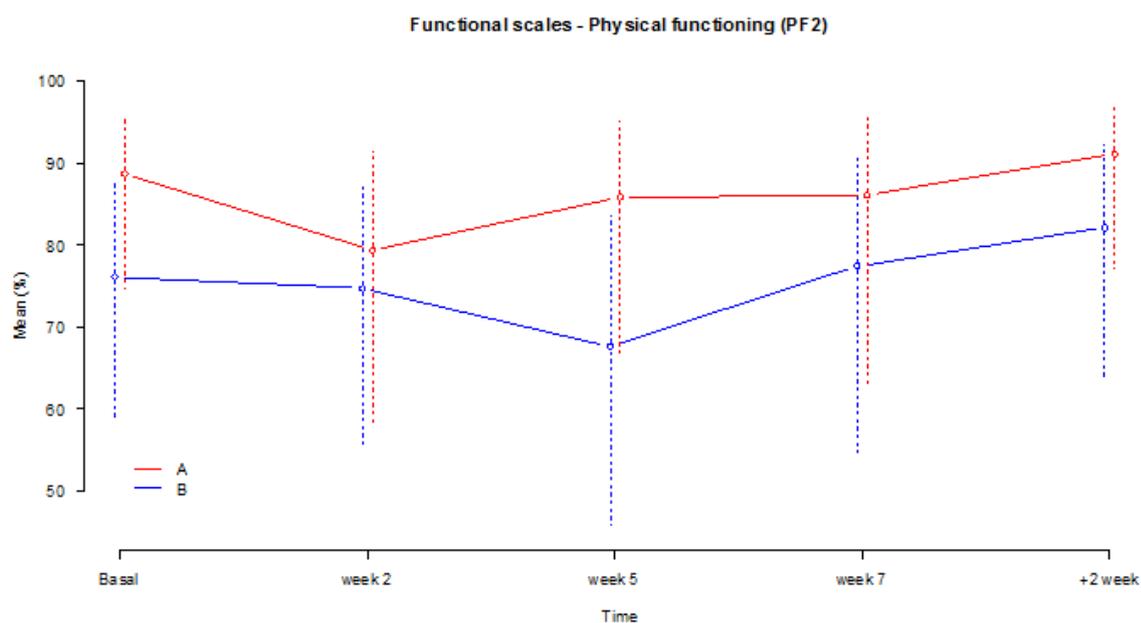


Figura 10 - Avaliação de Escala Funcional, funcionamento cognitivo, grafico demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico).

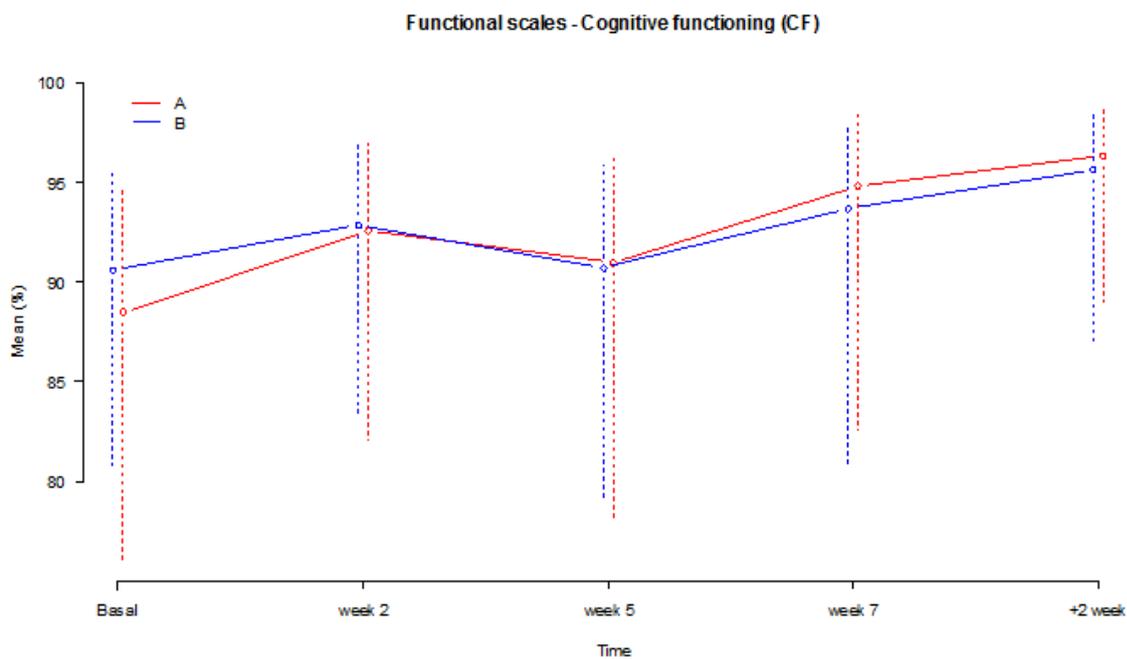


Figura 11 - Avaliação de Escala Funcional, função emocional: grafico mostra não haver diferença significativa entre os A (placebo) e B (fitoterápico).

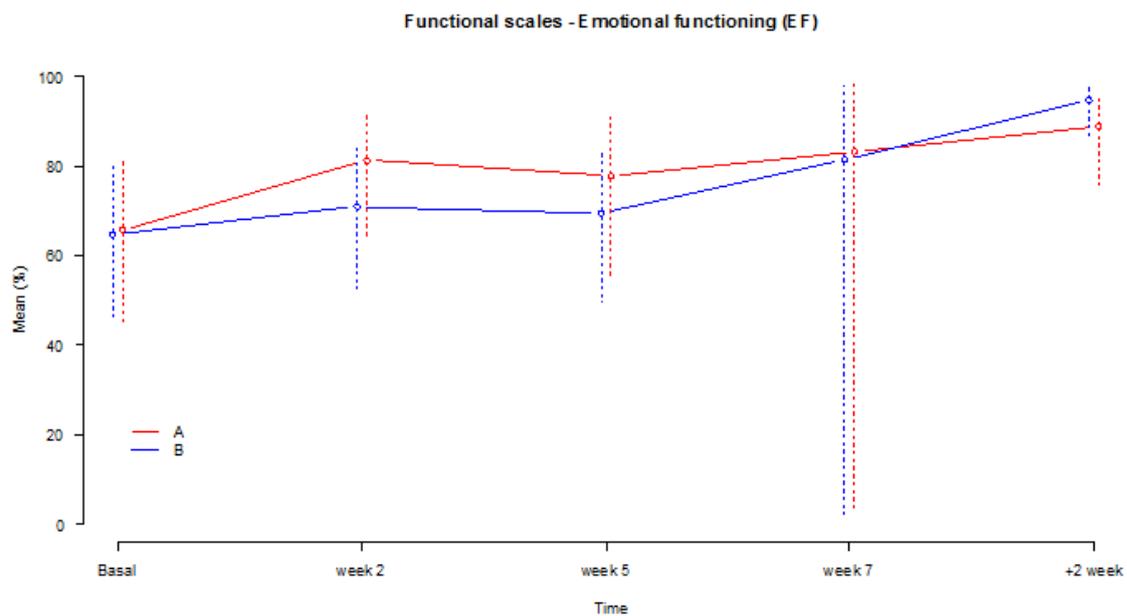
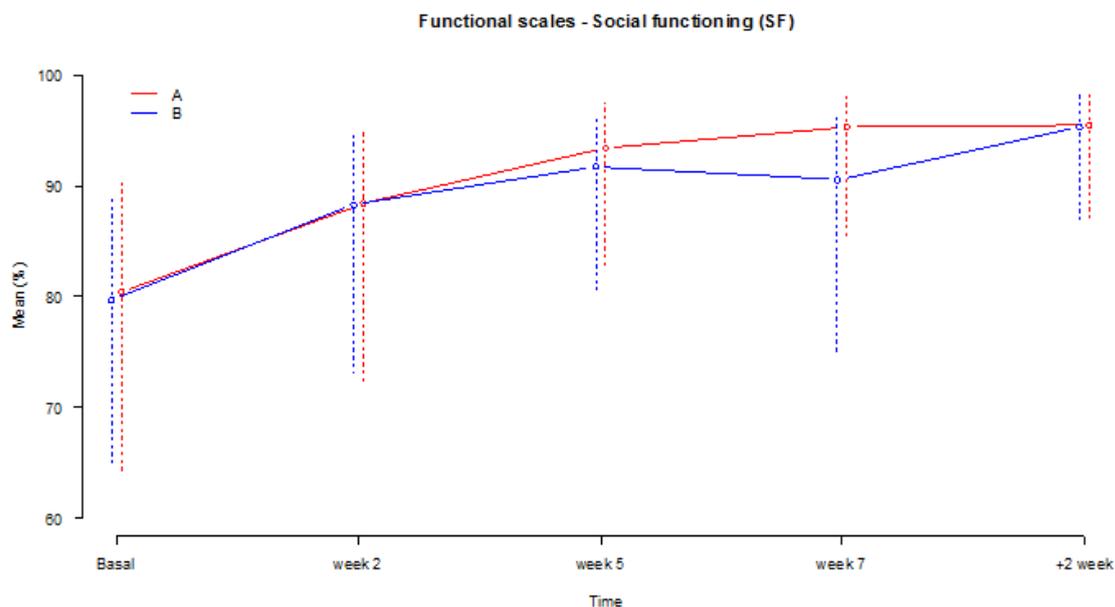


Figura 12 - Avaliação de Escalas Funcionais, função social: grafico demonstra não haver diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico).



Ainda em análise de critérios de qualidade de vida do questionário QLQ-C30, relacionados aos sintomas de fadiga, dor, náusea e vômito, não houve diferenças significativas apresentadas entre o grupo que fez uso de placebo e o grupo que utilizou extrato de *M. laevigata*, indicando que o uso ou não do extrato não interferiu em tais sintomas (Figuras 13, 14 e 15).

Figura 13 - Avaliação de Escala de sintomas, fadiga. Gráfico demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a fadiga.

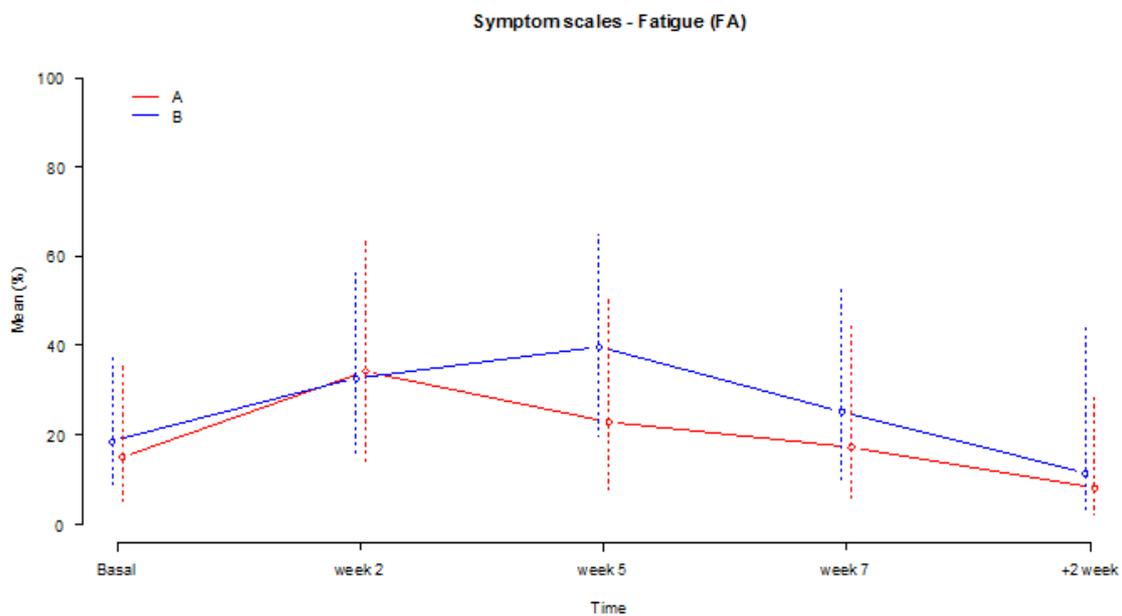


Figura 14 - Avaliação de Escala de sintomas, dor. Gráfico demonstra que não houve diferença significativa entre o grupo A (placebo) e o grupo B em relação a sintomas de dor.

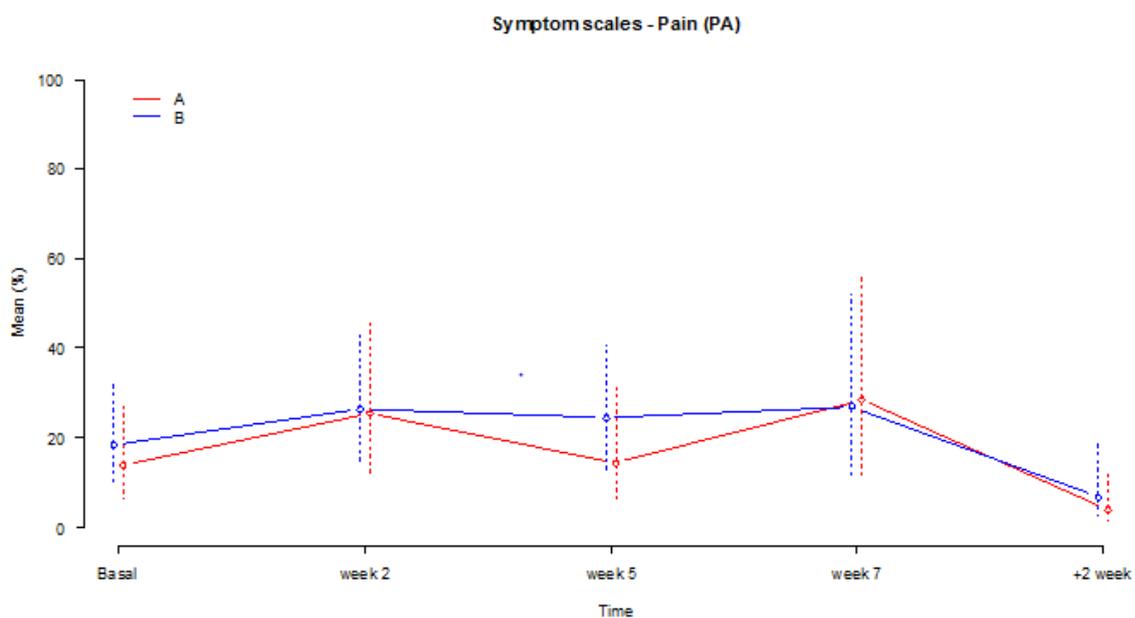
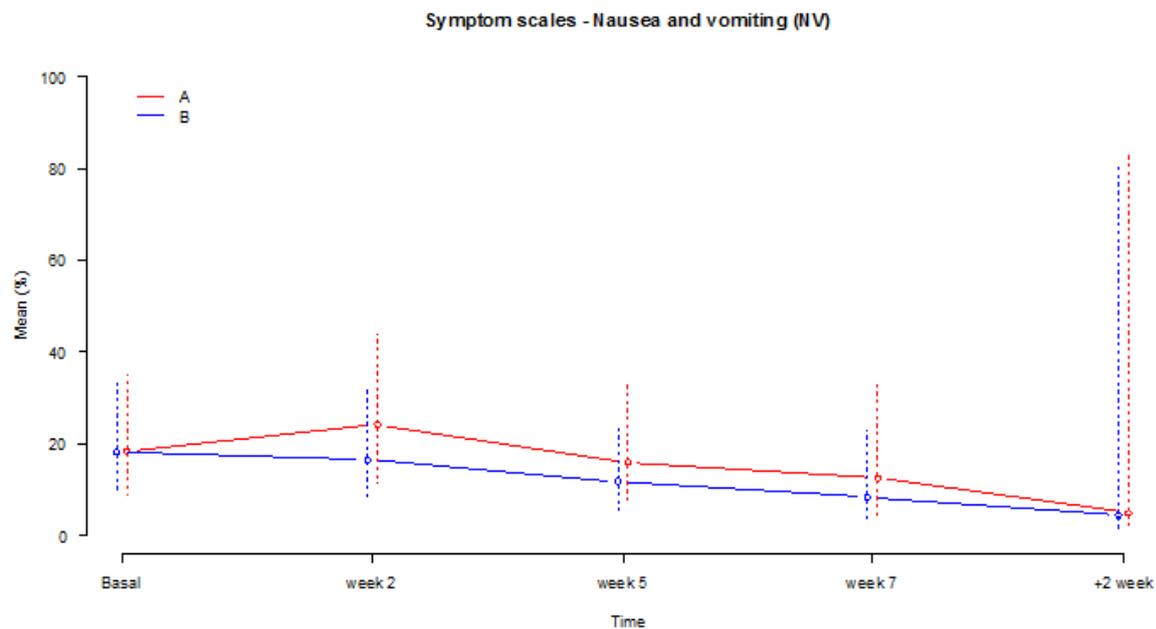


Figura 15 - Avaliação de Escala de sintomas, náusea e vômito, não apresenta diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) no que diz respeito a frequência de náusea e vômitos.



Em relação aos itens de sintomas adicionais, do questionário QLQ-C30, entre eles: dispnéia, insônia, perda de apetite, constipação, diarreia e dificuldades financeiras, não foi observada diferença estatística entre os grupos recebendo placebo e fitoterápico (Figuras, 16, 17, 18, 19, 20 e 21). Portanto de acordo com Rodrigues et al. (2007), a utilização de extrato vegetal é uma boa alternativa ao uso de compostos sintéticos.

Figura 16 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, dispnéia. Gráfico demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a falta de ar.

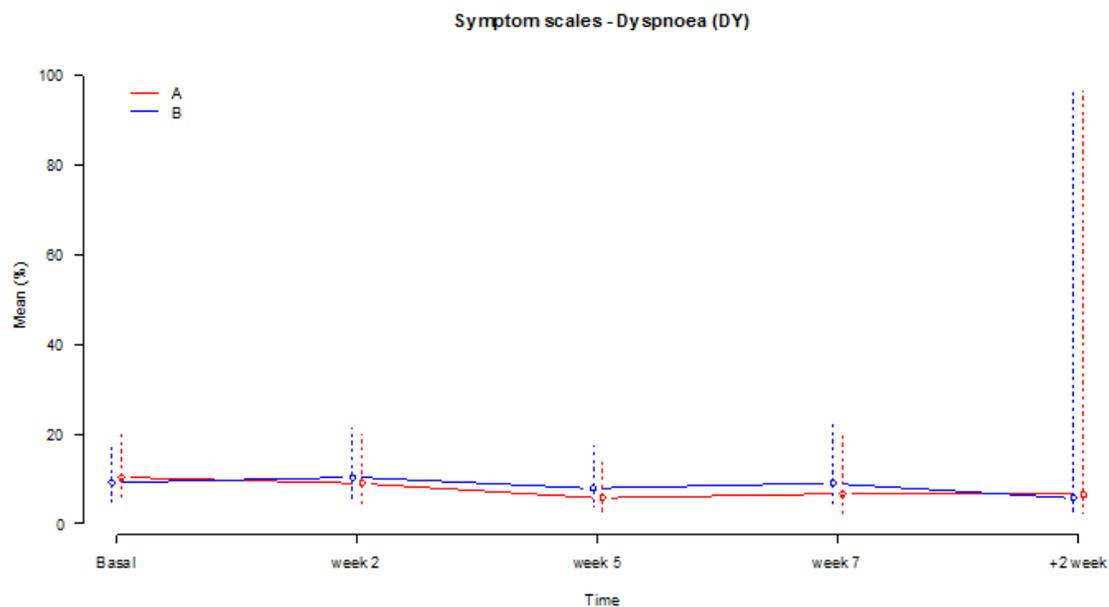


Figura 17 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, insônia. Gráfico demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) quanto a insônia

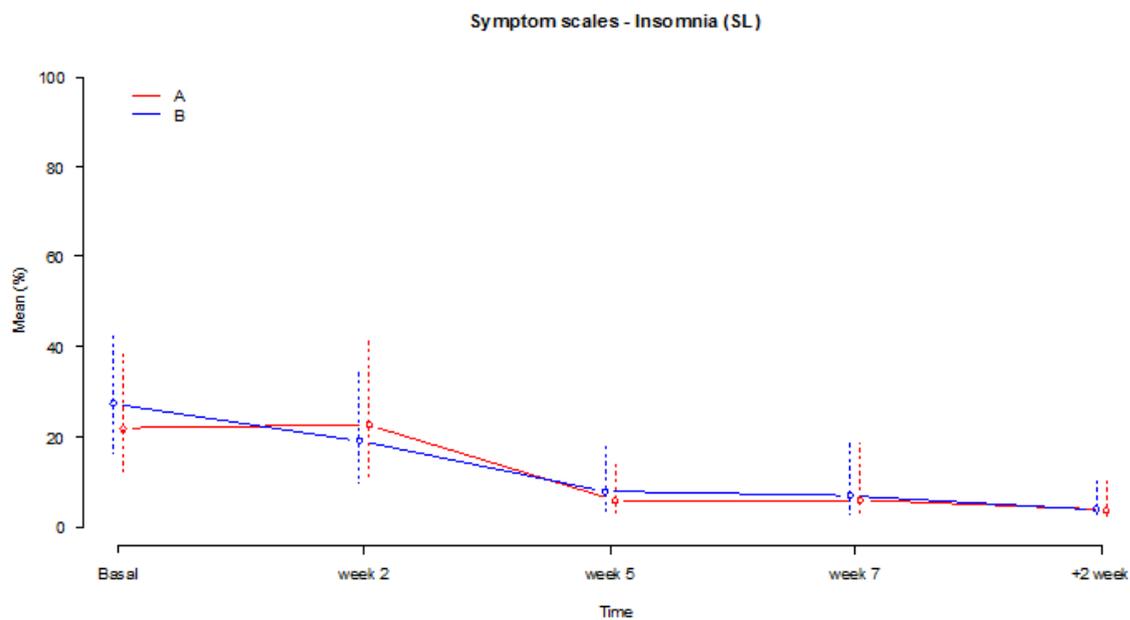


Figura 18 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, perda de apetite. Gráfico demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a falta de apetite.

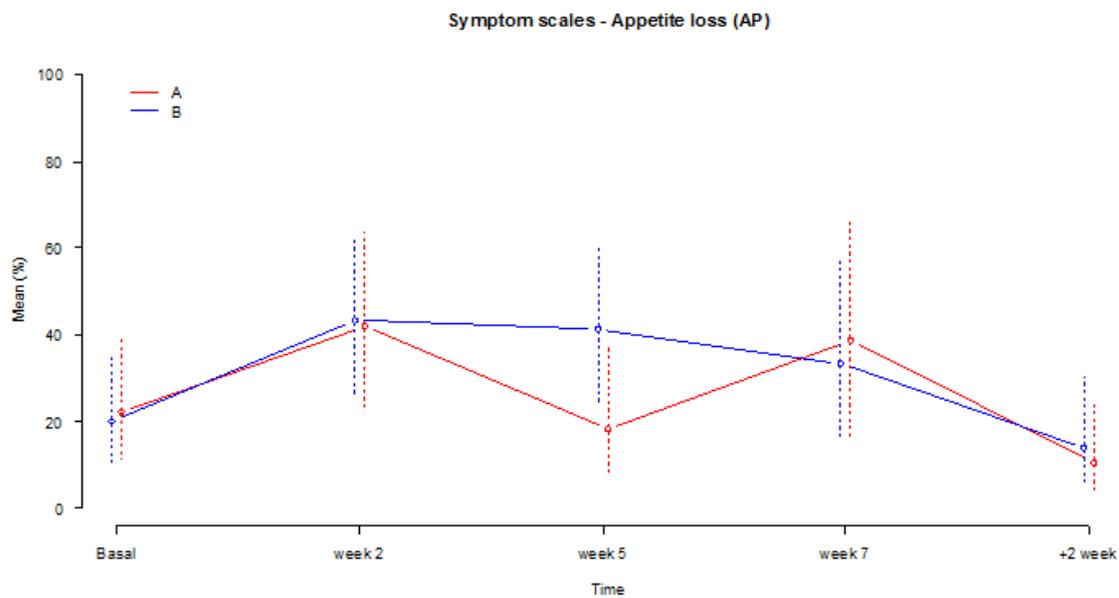


Figura 19 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, constipação. Gráfico demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a constipação intestinal.

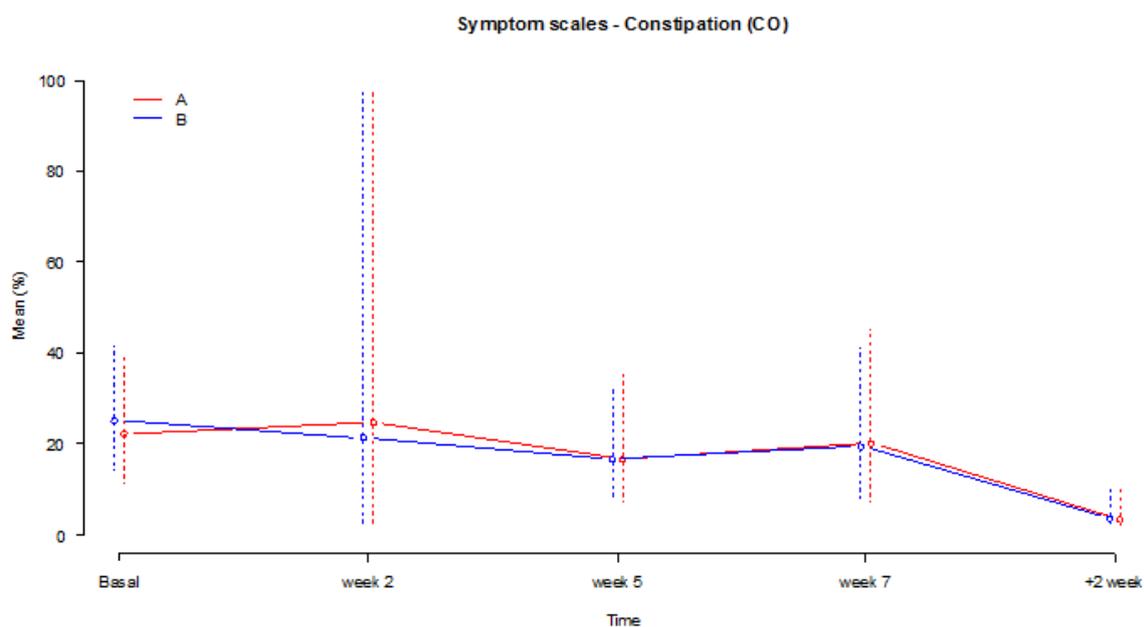


Figura 20 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, diarreia. Gráfico demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a incidência de diarreias.

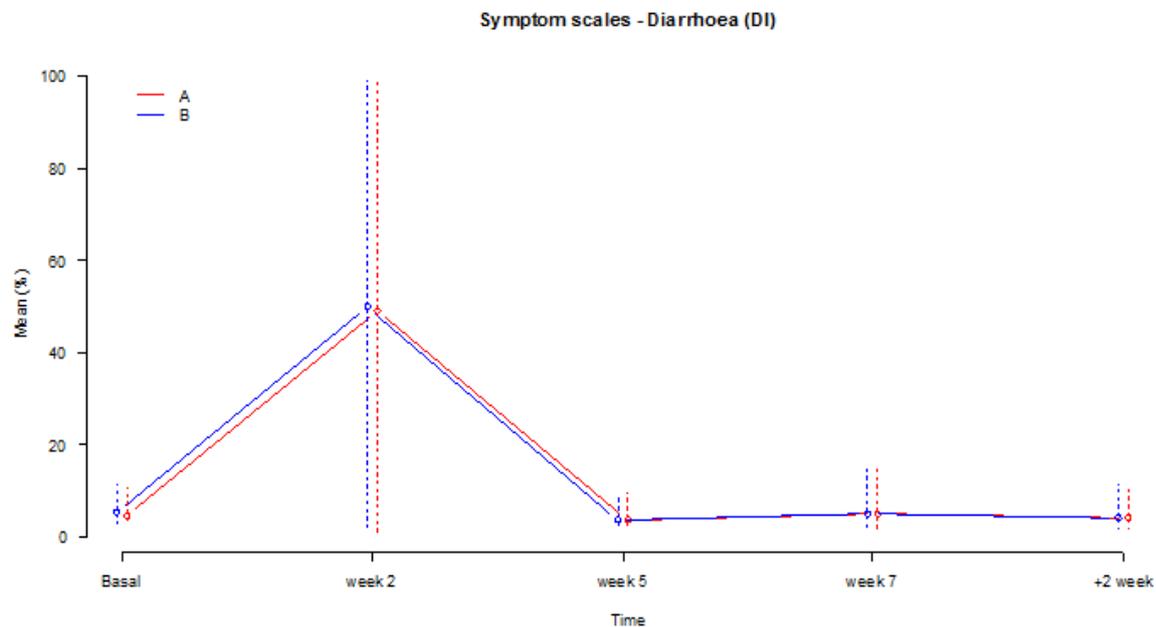
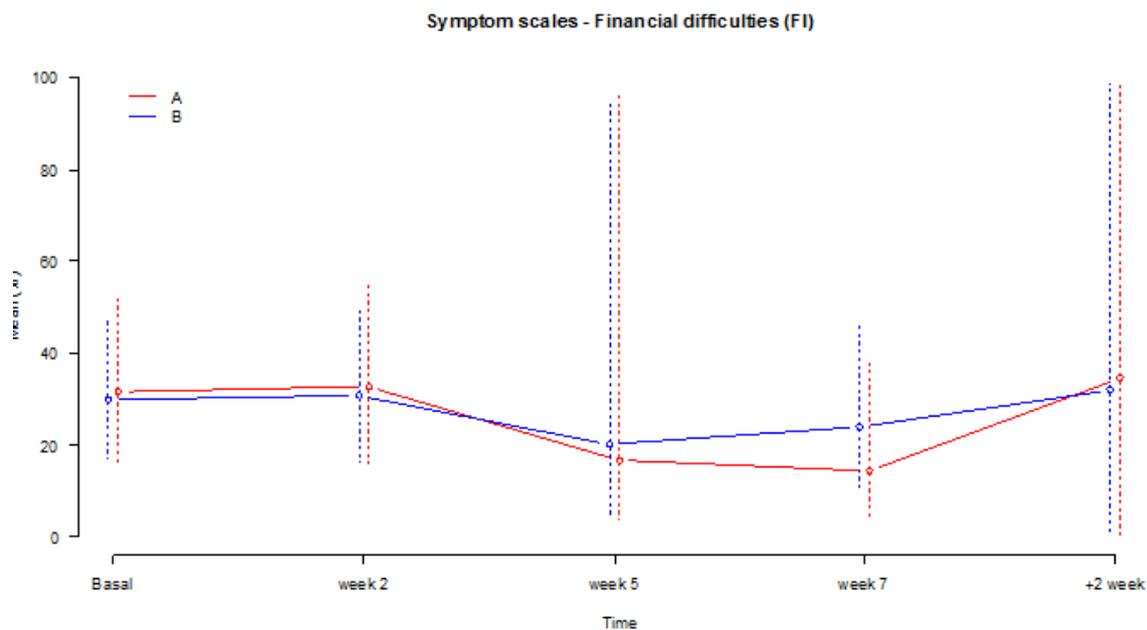


Figura 21 - Avaliação de Escala de sintomas adicionais, dificuldades financeiras. Gráfico demonstra que não houve diferença significativa entre os grupos A (placebo) e B (fitoterápico) em relação a dificuldades financeiras.



7. CONCLUSÕES

O extrato aquoso de *M. laevigata* utilizado como fitoterápico na maioria dos parâmetros avaliados não mostrou diferenças estatísticas entre o grupo tratado e o grupo placebo. O fitoterápico não promoveu efeito adverso nas funções físicas, cognitivas, emocionais, sociais, bem como não causou reações de fadiga, náusea, dor, vômito, falta de ar, insônia, perda de apetite, constipação, diarreia ou problemas financeiros aos pacientes que o utilizaram. Constatou-se também que houve melhor índice de funções orgânicas gerais nos pacientes tratados com o fitoterápico.

Pacientes que usaram o extrato aquoso de guaco apresentaram menor intensidade de xerostomia, justificando o uso do fitoterápico em pacientes que apresentam essa disfunção orgânica. Outro benefício do uso do fitoterápico foi a diminuição da duração da mucosite, já que os pacientes que utilizaram o extrato apresentaram menor incidência de mucosite ao final do tratamento, embora isso não tenha sido estatisticamente significativo.

A comprovação da atividade sobre a xerostomia em pacientes irradiados permite afirmar que o extrato aquoso de *Mikania laevigata* tem potencial para ser um fitoterápico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, C.F. et al. Anti-inflammatory activity and possible mechanism of extract from *Mikania laevigata* in carrageenan-induced peritonitis. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.61, p. 1097–1104, 2009.

ANTUNES, H.S. et al. Phase III trial of low-level laser therapy to prevent oral mucositis in head and neck cancer patients treated with concurrent chemoradiation. **Radiotherapy and Oncology**, v. 109, p. 297–302, 2013.

BARATTO, L. et al. Investigação da atividades alelopática e antimicrobiana de *Mikania laevigata* (Asteraceae) obtida de cultivos hidropônico e tradicional. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14(4), p. 577-582, Out/Dez, 2008.

BARDET, E. et al. Subcutaneous Compared With Intravenous Administration of Amifostine in Patients With Head and Neck Cancer Receiving Radiotherapy: Final Results of the GORTEC 2000-02 Phase III Randomized Trial. **Journal Clinical Oncology**, v. 29, p. 127-133, 2010.

BENATTI, B.B, et al. Effects of a *Mikania laevigata* extract on bone resorption and RANKL expression during experimental periodontitis in rats. **Journal Appl Oral Sci**, v. 20(3), p. 340-346, 2012

BIGHETTI, A.E. et al. Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract and coumarin isolated from *Mikania Laevigata* Schultz Bip. **Phytomedicine**, v. 12, p. 72-77, 2005.

BONAN, P.R.F. et al. Aspectos clínicos, biológicos, histopatológicos e tratamentos propostos para a mucosite oral induzida por radioterapia: revisão da literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51(3), p. 235-242, 2005.

BOLINA, R.C. et al. Estudo da composição química das espécies vegetais *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19(1B), p. 294-298, Jan/Mar, 2009.

BORAKS, S. **Diagnóstico Bucal**. 3º ed. São Paulo: Editora Artes Médicas, 536 p. 2001.

BRANSCUM, A. J. JOHNSON, W.O. THURMOND, M. C. Bayesian beta regression: application to household expenditure data and genetic distance between foot-and-mouth disease viruses. **Aust N Z J Stat**, v. 49, p.287-301. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde RENISUS. Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS. Espécies vegetais. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>.

BRODY, S. et al. The dentist's role within the multi-disciplinary team maintaining quality of life for oral cancer patients in light of recent advances in radiotherapy. **Journal of the irish dental association**, vol 59 (3); 137-146. Junho/Julho2013.

BUDEL, J. M. et al. Contribuição ao estudo farmacognóstico de *Mikania Laevigata* Sch. Bip. ex Baker (guaco), visando o controle de qualidade da matéria- prima. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19(2B), p. 545-552, Abr/Jun, 2009.

CAMPOS, M.I.C. et al. Oral mucositis in cancer treatment: Natural history, prevention and treatment (Review). **Molecular and Clinical Oncology**, v. 2, p. 337-340, 2014.

COLLEY, H. E. et al. Tissue-engineered oral mucosa to study radiotherapy-induced oral mucositis. **International Journal of Radiation Biology**. v. 9, p. 907–914, 2013.

FAYERS, P. M. et al. The European Organisation for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: A quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 85, p. 365-376, 1993.

FREITAS, D. A. et al. Sequelas bucais da radioterapia de cabeça e pescoço. **Revista CEFAC**, São Paulo, 2011.

FERREIRA, F. P, OLIVEIRA, D. C. R. New constituents from *Mikania laevigata* Shultz Bip. ex Baker. **Tetrahedron Letters** , v. 51, p. 6856–6859, 2010.

GASPARETTO, J. C. et al. *Mikania glomerata* Spreng. E *M. laevigata* Sch,Bip. Ex Baker, Asteraceae: estudos agronômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e uso nos programas de fitoterapia do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20(4), p. 627-640, Ago/Set, 2010.

GEORGIU, M. et al. Oral Mucositis: understanding the pathology and management. **Hippokratia**, v.16(3), p. 215-216, 2012.

GELMAN, A. et al. **Bayesian Data Analysis**. Third Edition. Chapman & Hall/CRC, 2013.

GOOKIZADEH A. Clinical evaluation of BIOXTRA in relieving signs and symptoms of dry mouth after head and neck radiotherapy of cancer patients at Seyed-al-Shohada Hospital, Isfahan, Iran. **Adv. Biomed Res.**v.1, p.01-05, 2012.

GRIFFITHS D.A. Maximum likelihood estimation for the beta-binomial distribution and an application to the house-hold distribution of the total number of cases of a disease. **Biometrics**, 29, p. 637–648, 1973.

GROTZ, K. A. et al. Prospective double-blind study of prophylaxis of radioxerostomia with Coumarin/Troxerutine in patients with head and neck cancer. **Strahlenther Onkol**, v. 175 (8), p. 397-403, 1999.

HADJIEVA, T. et al. Treatment of oral mucositis pain following radiation therapy for head-and-neck cancer using a bioadhesive barrier-forming lipid solution. **Support Care Cancer**. www.springerlink.com/DOI10.1007/s00520-014-2117-3.2014. Acesso em Fevereiro 2014.

HOFFMAN, K. E. et al. The impact of concurrent granulocyte–macrophage colonystimulating factor on quality of life in head and neck cancer patients: results of the randomized, placebo-controlled Radiation Therapy Oncology Group 9901 trial. **Qual Life Res.** Published on line on January 2014. [www.springerlink.com/DOI 10.1007/s11136-014-0628-5](http://www.springerlink.com/DOI/10.1007/s11136-014-0628-5). 2014.

JABER, K. Y. et al. Triclosan versus clorexidina no controle químico da placa e da gengivite em pacientes dentados com carcinoma espinocelular e de boca submetidos à radioterapia pós operatória. **Revista Brasileira Cirurgia Cabeça e Pescoço**, v. 36(2), p. 75-79, Abr/Mai/Jun 2007.

KALUŻNY, J. et al. Radiotherapy induced xerostomia: Mechanisms, diagnostics, prevention and treatment – Evidence based up to 2013. **Otolaryngologia Polska**, v.68, p. 1-12, 2014.

LALLA, R. et AL. Clinical Practice Guidelines for the Management of Mucositis Secondary to Cancer Therapy. **Wiley Online Library**, (wileyonlinelibrary.com), 2014.

LINO, M. D. M. C. et al. Laser Phototherapy as a Treatment for Radiotherapy – Induced Oral Mucositis. **Brazilian Dental Journal**, v.22(2), p. 162-165, 2011.

MC.GUIRE, D. B. et al. The 20 item mucosite index: Reliability and validity in bone marrow and stem cell transplant patients. **Cancer Investigation**, vol. 20(7&8), p. 893-903, 2002.

MC.GUIRE, D.B, et al. Systematic review of basic oral care for the management of oral mucositis in cancer patients. **Support Care Cancer**, v.21, p. 3165–3177, 2013.

MAZZORANA, D. M. et al. Influence of *Mikania laevigata* Extract over the Genotoxicity Induced by Alkylating Agents. **ISRN Toxicology**, 2013, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/521432>. Acesso em fevereiro 2014.

NAPIMOGA, M. H. YATSUDA, R. Scientific evidence for *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata* as a pharmacological tool. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, p. 809–820, 2010

NICOLATOU-GALITIS, O. et al. Oral mucosites, pain and xerostomia in 135 head and neck cancer patients receiving radiotherapy with or without chemotherapy. **The Open Cancer Journal**, v.4, p.7- 17, 2011.

OLIVEIRA, F.Q. et al. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17(3), p. 466-476, Jul./Set. 2007.

OTON-LEITE, A. F. et al. Effect of low level laser therapy in the reduction of oral complications in patients with cancer of the head and neck submitted to radiotherapy. **Special Care Dentistry Association**, v. 33(6), p. 294-300. 2013.

PEDROSO, A. P. D, et al. Isolation of syringaldehyde from *Mikania laevigata* medicinal extract and its influence on the fatty acid profile of mice. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18(1), p. 63-69, Jan./Mar. 2008.

PEREIRA, A.M.S. et al. Influence of Fertilizer on Coumarin Content and Biomass Production in *Mikania glomerata* Sprengel. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v.06 (1), 1998.

PEREIRA, A.M.S. et al. Manual Prático de Multiplicação e Colheita de Plantas Medicinais. 1º ed. Ribeirão Preto: Editora Bertolucci, 280 p. 2011.

PEREIRA, A. M. S. et al. Formulário Fitoterápico da Farmácia da Natureza. 2ºed. São Paulo. Editora Bertolucci, 404 p. 2014.

PINNA, R. et al. Xerostomia induced by radiotherapy: an overview of the physiopathology, clinical evidence, and management of the oral damage. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v.11, p. 171–188, 2015.

QUINN B. Efficacy of a supersaturated calcium phosphate oral rinse for the prevention and treatment of oral mucositis in patients receiving high-dose cancer therapy: a review of current data. **European Journal of Cancer Care**, v.22, p.564–579, 2013

RADVANSKY, L.J. et al. Prevention and management of radiation-induced dermatitis, mucositis, and xerostomia. **American Journal Society of Health-System Pharmacists**, v.70, p. 1025-1032, 2013.

RAO, S. et al. The Indian Spice Turmeric Delays and Mitigates Radiation-Induced Oral Mucositis in Patients Undergoing Treatment for Head and Neck Cancer: An Investigational Study. **Integrative Cancer Therapies**. <http://ict.sagepub.com/content/early/2013/10/31/1534735413503549>. 2013.

RODRIGUES, F. et al. Genotoxicity of three mouthwash products, Cepacol, Periogard, and Plax, in the *Drosophila* wing-spot test, **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 48, p. 644–649, 2007.

RUFFATO, L. C. et al. Mikania laevigata: Chemical characterization and selective cytotoxic activity of extracts on tumor cell lines. **Phytomedicine**, v. 20, p. 883– 889, 2013.

SAIBISHKUMAR, E. P. et al. Sparing the parotid glands and surgically transferred submandibular gland with helical tomotherapy in post-operative radiation of head and neck cancer: a planning study. **Radiother Oncol**, v. 85, p. 98–104, 2007.

SONIS, S.T. et al. The relationship between mucosal cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and experimental radiation-induced mucositis. **Oral Oncology**, v. 40, p.170-176, 2004a.

SONIS, S.T. et al. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury. Pathogenesis, measurement, epidemiology and consequences for patients. Supplement to cancer. Published on line (www.interscience.wiley.com). DOI 10.1002/cncr.20162. 2004b.

SONIS S. T, FEY E.G. Oral complications of cancer therapy. **Oncology**. v.16, p 680– 695. 2002.

SONIS, S.T. Oral Mucositis in Head and Neck Cancer: Risk, Biology, and Management. **ASCO Educational Book**. p. e-236- e-240. 2013.

SOREF, C. M., FAHL, W. E. A new topical vasoconstrictor - based strategy for prevention of oral mucositis. Article in Press. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oooo.2013.12.005>. 2014. Acesso em fevereiro 2014.

TURNER, L. et al. Review of the Complications Associated with Treatment of Oropharyngeal Cancer: A Guide to the Dental Practitioner. **Quintessence Int**, v.44(3), p. 267–279, 2013.

VOLPATO, L. E. R. et al. Mucosite bucal radio e quimioinduzida. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.73, n.4, p.562-567, Jul./Ago.2007.

WONG, H, M. Oral Complications and Management Strategies for Patients Undergoing Cancer Therapy. **The Scientific World Journal**, vol. 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/581795>. Acesso em fevereiro 2015.

YATSUDA, R. et al. Effects of *Mikania* genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 183-189, 2005.

ZHANG, X. et al. Clinical observation of submandibular gland transfer for the prevention of xerostomia after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma: a prospective randomized controlled study of 32 cases. **Radiation Oncology**, v. 9:62, 2014.

ANEXOS

ANEXO 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Introdução

Prezado(a) senhor(a), você está sendo convidado a participar de um estudo denominado “Uso da *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker no tratamento de mucosites”. A mucosite é uma complicação que surge em pessoas que fazem uso de quimioterapia ou radioterapia para o tratamento de doenças como o câncer, que atinge milhares de pessoas no mundo todo. Ela causa feridas na boca e na garganta, que doem muito e podem sangrar, dificultando a alimentação. Existem evidências que sugerem que um medicamento fitoterápico feito a partir de uma planta chamada *Mikania laevigata*, também conhecida como “guaco”, pode ser muito efetivo no tratamento da mucosite.

Como será feito o estudo?

O trabalho consiste em verificar se o uso do medicamento reduz os sintomas da mucosite, e promove a cicatrização das feridas na boca, durante o tratamento radioterápico. Para isso, será necessário comparar os efeitos deste medicamento com um medicamento “falso”, que não tem nenhum efeito, chamado de placebo. Você será orientado(a) a usar o medicamento regularmente, durante todo o período do tratamento radioterápico e durante uma semana após seu término, na forma de bochecho, três vezes ao dia, mas não saberá se está usando o medicamento verdadeiro ou o falso. O tratamento que você irá receber será decidido com base em uma espécie de sorteio, totalmente ao acaso, e você não saberá qual tratamento está usando, para não influenciar os resultados. Você será avaliado por um dentista, durante o tratamento. A avaliação consiste no exame da boca pelo dentista, (Carolina Della Torre Lima) e da coleta de um material da sua boca para estudar as bactérias que estão vivendo lá. A coleta desse material é feita passando um tipo de cotonete na parte de dentro da boca. Nenhum desses procedimentos causará dor ou desconforto. Além disso, serão feitas várias perguntas e as respostas serão anotadas para podermos analisar depois. São informações sobre você, sua saúde, sua doença, seus hábitos e sua família. Esses procedimentos deverão durar cerca de 30 minutos no total. Uma semana após o final do

tratamento radioterápico, você irá parar de usar o medicamento até que possamos terminar o estudo e concluir se ele realmente funciona ou não.

Existem riscos para os participantes do estudo?

Você não corre nenhum risco de sua doença piorar por causa do uso do medicamento, caso você seja sorteado para usá-lo, ou do placebo. Existem estudos que atestam a segurança do uso deste medicamento, mas mesmo assim existe a possibilidade de você ter alergia ao medicamento, e também do surgimento de efeitos colaterais. Nestes casos, o médico responsável poderá e deverá ser contatado imediatamente.

Quais os benefícios do estudo?

O estudo ajudará na investigação de um tratamento barato, seguro e eficaz para as pessoas que têm mucosite por causa da radioterapia e da quimioterapia.

Sou obrigado a participar do estudo?

O(a) senhor(a) tem o direito de recusar-se a participar deste estudo ou mesmo parar de participar em qualquer momento que desejar sem que isso prejudique a continuidade do seu atendimento de qualquer maneira, ou sofra qualquer tipo de advertência ou retaliação.

Minha identidade será preservada?

Em nenhum momento durante a realização do estudo, ou durante a divulgação dos resultados do estudo, sua identidade será revelada.

Quem é o responsável pelo estudo?

Os responsáveis pelo estudo são a Prof.^a Dr.^a Ana Maria Soares Pereira, docente do Departamento de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), telefone 16-8156-5654, o Prof. Dr. Fabio Carmona, médico e docente do Departamento de Puericultura e Pediatria do Hospital das Clínicas da FMRP-USP, telefone 16-8117-7221 e Carolina Della Torre Lima, Cirurgiã Dentista, Mestranda do Departamento de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), telefone 16-9179- 0012 e 16- 3625-1185.

Ressarcimento de despesas

Como o(a) senhor(a) irá comparecer ao Hospital das Clínicas somente para fins de pesquisa, será oferecido vale transporte e alimentação, na forma de lanche ou almoço, o que for mais adequado. Caso o(a) senhor(a) tenha realizado algum gasto com transporte ou

alimentação relacionados à sua participação neste estudo, o senhor terá direito a ressarcimento, no mesmo valor dos gastos efetuados.

Informações adicionais

Não está prevista nenhuma forma de compensação ou remuneração pela participação no estudo, de acordo com a Lei Brasileira. Os resultados deste estudo serão divulgados independente de suas conclusões a favor ou contra o uso do medicamento. A qualquer momento o(a) senhor(a) poderá solicitar esclarecimentos adicionais sobre a participação no estudo ou sobre o tratamento utilizado. Em caso de dúvidas, durante ou após a participação no estudo, você ou qualquer membro de sua família poderá contatar os responsáveis pelo estudo, pessoalmente ou por telefone, conforme abaixo:

Prof.^a Dr.^a Ana Maria Soares Pereira, telefone 16-8156-5654.

Prof. Dr. Fabio Carmona, telefones 16-3602-2478 ou 16-8117-7221.

Você também poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas, para fazer perguntas, sugestões ou denúncias relacionadas a este estudo, pelo telefone 16-3602-2228.

Autorização para inclusão no estudo

Eu, _____, após ler este documento pessoalmente, e receber todas as informações necessárias e ter minhas dúvidas esclarecidas, e tendo conhecimento de todos os meus direitos, autorizo voluntariamente a minha inclusão no estudo.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____.

Responsável		Assinatura
Investigador		Assinatura

ANEXO 2 – Twenty-items Oral Mucositis Index (OMI-20)

Nome: _____

Data de nascimento: _____ Data de hoje: _____

	Mucosa labial		Mucosa bucal		Língua			Assoalho da boca	Palato mole
	Inferior	Superior	Direita	Esquerda	Dorsal	Lateral	Ventral		
Atrofia*									
Eritema*									
Edema*									
Úlceras ou pseudomembrana (medidas em cm)									
Comentários:								Escore total	

Instruções: cada célula deve ter um número. Escreva 0, 1, 2 ou 3 em cada célula de acordo com os seguintes critérios:

- Atrofia dorsal da língua: varia de tamanho “normal” das papilas filiformes (grau 0) até perda total da arquitetura normal (língua careca, grau 3).
 - 0 = normal, 1 = atrofia leve, 2 = atrofia moderada, e 3 = atrofia intensa.
- Eritema: varia de coloração normal (grau 0) até vermelho sangue-vivo (grau 3).
 - 0 = normal, 1 = eritema leve, 2 = eritema moderado, e 3 = eritema intenso.
- Edema lateral da língua: varia de normal (grau 0) até grau 3 (língua indentada pela pressão dos dentes).
 - 0 = normal, 1 = edema leve, 2 = edema moderado, e 3 = edema intenso.
- Ulceração ou pseudomembrana: é a área de envolvimento em cada um dos locais:
 - 0 = sem úlcera ou pseudomembrana, 1 = $\leq 1 \text{ cm}^2$, 2 = $1-2 \text{ cm}^2$, e 3 = $\geq 2 \text{ cm}^2$.

Tabela para aferição do tamanho das úlceras orais:

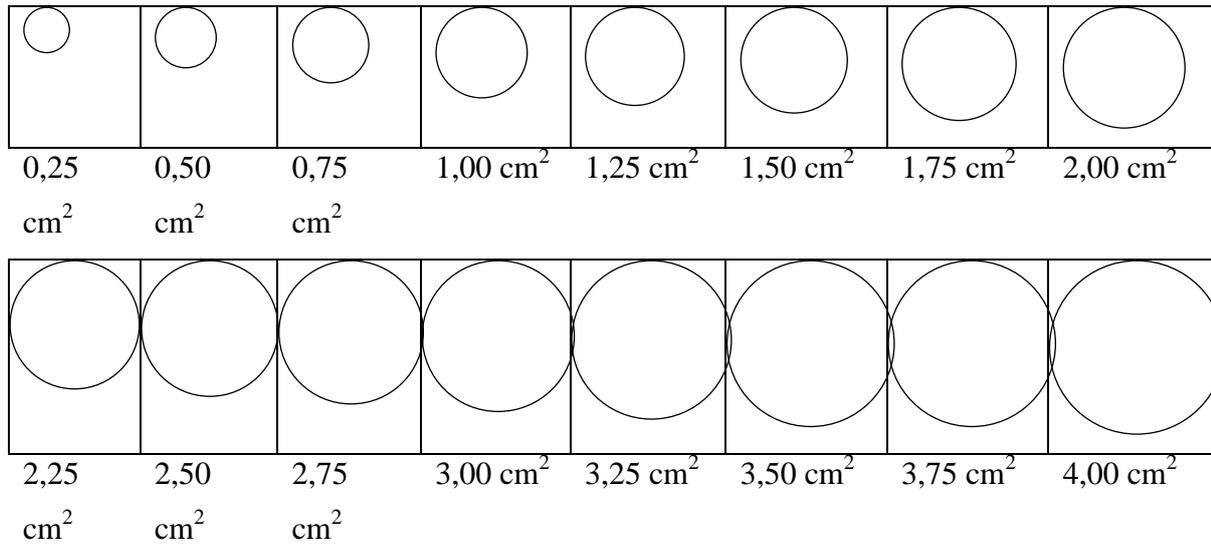


Tabela para aferição do eritema oral:

Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3
Coloração normal	Eritema leve	Eritema moderado	Eritema intenso
			

ANEXO 3 – Escala da Organização Mundial da Saúde (OMS)

Grau 1: Dor, com ou sem eritema	Grau 2: Eritema, úlceras; paciente consegue engolir sólidos	Grau 3: Úlceras com eritema extenso; paciente não consegue engolir comida	Grau 4: Mucosite de tal grau que alimentação é impossível
			

ANEXO 4 – Acute Radiation Morbidity Scoring Criteria

<p>Grau 1: Pode apresentar dor leve não necessitando analgesia</p>	<p>Grau 2: Mucosite heterogênea que pode causar secreção inflamatória serossanguínea; pode apresentar dor moderada necessitando analgesia</p>	<p>Grau 3: Mucosite fibrinosa confluyente; pode apresentar dor intensa necessitando analgesia com opioides</p>	<p>Grau 4: Ulceração, hemorragia ou necrose</p>
--	---	--	---

ANEXO 6 – Escala de Qualidade de Vida de Karnofsky

Capaz de exercer uma atividade normal e ao trabalho; nenhum cuidado especial é necessário	100	Normal sem queixas, sem evidência de doença
	900	Capaz de exercer uma atividade normal, com pequenos sinais ou sintomas da doença
	800	Atividade normal com esforço, alguns sinais ou sintomas da doença
Impossibilitado de trabalhar, capaz de viver em casa e cuidar de necessidades mais pessoais; quantidade variável de assistência necessária	700	Cuidados para si, incapaz de exercer uma atividade normal ou para fazer um trabalho ativo
	600	Requer assistência ocasional, mas é capaz de cuidar mais de suas necessidades pessoais
	500	Requer considerável assistência e cuidados médicos frequentes
Incapaz de cuidar de si mesmo, requer equivalente de cuidados institucionais ou hospitalares; a doença pode estar progredindo rapidamente	400	Com deficiência, requer cuidados e assistência especiais
	300	Com deficiência grave, a hospitalização é indicada, embora a morte não seja iminente
	200	Muito doente, hospitalização necessária, tratamento de suporte ativo necessário
	100	Moribundos, processo fatal progredindo rapidamente
	0	Morte

ANEXO 7 – Escala de qualidade de vida QLQ-C30 + H&N-C35

Nós estamos interessados em alguns dados sobre você e sua saúde. Responda, por favor, a todas as perguntas fazendo um círculo no número que melhor se aplica a você. Não há respostas certas ou erradas. A informação que você fornecer permanecerá estritamente confidencial.

Data de hoje: ____/____/____

		Não	Pouco	Modera- damente	Muito
1	Você tem qualquer dificuldade quando faz grandes esforços, por exemplo carregar uma bolsa de compras pesada ou uma mala?	1	2	3	4
2	Você tem qualquer dificuldade quando faz uma <u>longa</u> caminhada?	1	2	3	4
3	Você tem qualquer dificuldade quando faz uma <u>curta</u> caminhada fora de casa?	1	2	3	4
4	Você tem que ficar numa cama ou na cadeira durante o dia?	1	2	3	4
5	Você precisa de ajuda para se alimentar, se vestir, se lavar ou usar o banheiro?	1	2	3	4
	Durante a última semana:				
6	Tem sido difícil fazer suas atividades diárias?	1	2	3	4
7	Tem sido difícil ter atividades de divertimento ou lazer?	1	2	3	4
8	Você teve falta de ar?	1	2	3	4
9	Você tem tido dor?	1	2	3	4
10	Você precisou repousar?	1	2	3	4
11	Você tem tido problemas para dormir?	1	2	3	4
12	Você tem se sentido fraco/a?	1	2	3	4
13	Você tem tido falta de apetite?	1	2	3	4
14	Você tem se sentido enjoado/a?	1	2	3	4

15	Você tem vomitado?	1	2	3	4
16	Você tem tido prisão de ventre?	1	2	3	4
17	Você tem tido diarreia?	1	2	3	4
18	Você esteve cansado/a?	1	2	3	4
19	A dor interferiu em suas atividades diárias?	1	2	3	4
20	Você tem tido dificuldade para se concentrar em coisas, como ler jornal ou ver televisão?	1	2	3	4
21	Você se sentiu nervoso/a?	1	2	3	4
22	Você esteve preocupado/a?	1	2	3	4
23	Você se sentiu irritado/a facilmente?	1	2	3	4
24	Você se sentiu deprimido/a?	1	2	3	4
25	Você tem tido dificuldade de se lembrar das coisas?	1	2	3	4
26	A sua condição física ou o tratamento médico tem interferido em sua vida <u>familiar</u> ?	1	2	3	4
27	A sua condição física ou o tratamento médico tem interferido em suas atividades <u>sociais</u> ?	1	2	3	4
28	A sua condição física ou o tratamento médico tem lhe trazido dificuldades financeiras?	1	2	3	4

Para as seguintes perguntas, por favor, faça um círculo em volta do número entre 1 e 7 que melhor se aplica a você.

29. Como você classificaria a sua saúde em geral, durante a última semana?

1 2 3 4 5 6 7

Péssima

Ótima

30. Como você classificaria a sua qualidade de vida geral, durante a última semana?

1 2 3 4 5 6 7

Péssima

Ótima

Às vezes os pacientes relatam que possuem alguns sintomas ou problemas referentes a sua enfermidade ou tratamento. Por favor, indique em que medida você sentiu estes sintomas

ou problemas durante a semana passada. Por favor, assinale com um círculo o que corresponde mais adequadamente ao seu caso.

	Durante a semana passada:	Não	Pouco	Moderado	Muito
31	Você teve dores na sua boca?	1	2	3	4
32	Você teve dor no maxilar superior (parte superior da boca) ou inferior (queixo)?	1	2	3	4
33	Tem ocorrido alguma irritação em sua boca?	1	2	3	4
34	Você tem tido dor em sua garganta?	1	2	3	4
35	Você teve dificuldade em engolir líquidos?	1	2	3	4
36	Você teve dificuldade em engolir alimentos pastosos (ex. purê de batatas)?	1	2	3	4
37	Você teve dificuldade em engolir alimentos sólidos (ex. arroz, carne)?	1	2	3	4
38	Ao engolir, você tem engasgado?	1	2	3	4
39	Houve algum problema com seus dentes?	1	2	3	4
40	É difícil abrir a boca?	1	2	3	4
41	Você tem sentido sua boca seca?	1	2	3	4
42	A saliva era de consistência pegajosa?	1	2	3	4
43	Você teve dificuldades em sentir os cheiros?	1	2	3	4
44	Você teve dificuldades em sentir o sabor dos alimentos?	1	2	3	4
45	Você tem tido tosse?	1	2	3	4
46	Esteve rouco?	1	2	3	4
47	Você tem se sentido doente?	1	2	3	4
48	Em relação a sua aparência, você tem se preocupado com a sua condição física?	1	2	3	4
49	Você teve dificuldade em se alimentar?	1	2	3	4
50	Você teve dificuldade em se alimentar à frente de sua família?	1	2	3	4
51	Você teve dificuldade em se alimentar à frente de outras pessoas?	1	2	3	4

52	Você teve dificuldade em ter prazer em suas refeições?	1	2	3	4
53	Você teve dificuldade em falar com outras pessoas?	1	2	3	4
54	Você teve dificuldade em falar ao telefone?	1	2	3	4
55	Você encontrou dificuldades no convívio com sua família?	1	2	3	4
56	Você encontrou dificuldades no convívio com seus amigos?	1	2	3	4
57	Você teve dificuldade em estar presente em lugares públicos?	1	2	3	4
58	Você encontrou alguma dificuldade em ter contato pessoal com sua família ou amigos?	1	2	3	4
59	Você tem sentido menos interesse sexual?	1	2	3	4
60	Você teve menos prazer sexual?	1	2	3	4
	Durante a semana passada:			Não	Sim
61	Você tomou algum medicamento para as dores?			1	2
62	Tomou algum suplemento alimentar (excluindo vitaminas)?			1	2
63	Alimentou-se através de sonda?			1	2
64	Você perdeu peso?			1	2
65	Você ganhou peso?			1	2

ANEXO 8 - Ficha de coleta de dados clínicos

PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO CLÍNICA
MIKANIA LAEVIGATA E MUCOSITES

DADOS GERAIS

Nome

Idade

Sexo

[] Masc [] Fem

Etnia

IMC

kg/m²

Peso

kg

Altura

m

Tempo

de anos

Data da inclusão

/ /

diagnóstico

Diagnóstico

Medicamentos em

uso

Outras informações

Grupo de estudo

[] A [] B

Em uso de [] Sim [] Não
quimioterapia?Necessitou de sonda [] Sim [] Não
nasogástrica?

Necessitou de laser? [] Sim [] Não

Necessitou de [] Sim [] Não
tratamento anti-
inflamatório?