

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NOS GENES *SOD2*,
CAT, *TNF- α* E *IL-6* EM PACIENTES
ONCOPEDIÁTRICOS COM MUCOSITE ORAL
QUIMIOINDUZIDA**

Marina de Castro Coêlho

SAPIENTIA AEDIFICAT

2021

MARINA DE CASTRO COELHO

**ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NOS GENES *SOD2*, *CAT*, *TNF- α*
E *IL-6* EM PACIENTES ONCOPEDIÁTRICOS COM MUCOSITE
ORAL QUIMIOINDUZIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Ciências Odontológicas.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Naila Francis Paulo de Oliveira

João Pessoa

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C672a Coêlho, Marina de Castro.

Análise de polimorfismos nos genes SOD2, CAT, TNF-alfa e IL-6 em pacientes oncopediátricos com mucosite oral quimioinduzida / Marina de Castro Coêlho. - João Pessoa, 2021.

56 f. : il.

Orientação: Naila Francis Paulo de Oliveira.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Saúde bucal. 2. Mucosite oral. 3. Polimorfismos genéticos. 4. Estresse oxidativo. 5. Citocinas. 6. Pediatria - Pacientes oncológicos. I. Oliveira, Naila Francis Paulo de. II. Título.

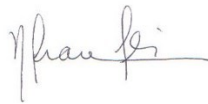
UFPB/BC

CDU 616.314(043)

MARINA DE CASTRO COELHO

**ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NOS GENES *SOD2*, *CAT*, *TNF- α*
E *IL-6* EM PACIENTES ONCOPEDIÁTRICOS COM MUCOSITE
ORAL QUIMIOINDUZIDA**

Banca Examinadora da Defesa:



Orientador(a): Profª Drª Naila Francis Paulo de Oliveira
Programa de Pós-Graduação em Odontologia - UFPB



Membro titular interno: Profª Drª Ana Maria Gondim Valença
Programa de Pós-Graduação em Odontologia - UFPB



Membro titular externo: Profª Drª Darlene Camati Persuhn
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição - UFPB

Suplente: Profª Drª Joelma Rodrigues de Souza
Programa de Pós-Graduação em Odontologia – UFPB

Suplente: Profª Drª Maria Cristina Leme Godoy dos Santos
Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular - UFPR

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os pacientes oncológicos em suas diversas faixas etárias que lutam diariamente pela adaptação ao tratamento e manutenção da doença. No que cabe a mim como pesquisadora e divulgadora científica, não serão medidos esforços para contribuir com os conhecimentos referentes ao câncer e com qualquer avanço científico que vise oferecer a vocês uma maior qualidade de vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela graça de estar viva e por mais esta oportunidade de contribuir positivamente com o conhecimento científico por que tanto sou apaixonada.

Aos meus pais, Fabíola e Gilberto, por me darem a garantia contínua e inabalável de poder fazer de minha paixão a minha área de atuação profissional, e ao meu irmão Gabriel, por sempre me transmitir sua experiência frente aos desafios da vida acadêmica e me oferecer um ombro fraterno no qual posso descansar quando necessário.

Aos meus colegas de laboratório, Beatriz e José Viana, que foram como luzes nos longos dias de experimentos em laboratório e estiveram comigo, mesmo à distância, em todos os sucessos e momentos de dificuldades. Vocês foram essenciais para que esse trabalho pudesse ser concluído, não duvidem disso.

À minha orientadora, prof^ª Naila Francis, por me acompanhar desde a graduação em projetos desafiadores e me proporcionar toda a experiência em Genética Molecular que possuo hoje, e também a todas as professoras que contribuíram para que este trabalho fosse possível: prof^ª Ana Maria, que me abriu as portas do mundo da Oncopediatria e todos os seus desafios, permitindo que eu pudesse contribuir com ele; e prof^ª Darlene, sempre solícita em nos ajudar nas discussões relacionadas às análises realizadas neste trabalho.

À Livania, por se importar comigo e cuidar de mim quando eu mesma esquecia de fazê-lo e por sempre me lembrar de que sou capaz de ir aonde for e ser quem eu quiser.

A minhas maravilhosas Ana e Sofia, que continuam presentes independente do lugar do mundo onde se encontrem, e a Aline, de quem sinto o carinho e cuidado mesmo nesse momento em que não podemos nos ver presencialmente.

Aos meus incríveis amigos Moana, Camila, Luluca, Victor e Renan, pelo entretenimento de qualidade em videochamadas nos sábados à noite, pela endorfina nas manhãs de corrida e pela saudade de estarmos todos juntos, que só prova o quanto vocês são importantes para mim.

“- Coragem, meu filho! O Senhor não te desampara.”

Ministro Clarêncio de “Nosso Lar”

Por André Luiz e Chico Xavier

RESUMO

A mucosite oral (MO) é uma condição oral inflamatória e dolorosa decorrente do tratamento do câncer, porém há grande variabilidade na forma de manifestação deste efeito adverso nesta população. O estresse oxidativo é reconhecidamente um mediador da MO e citocinas pró-inflamatórias participam na amplificação da resposta imune, agravando a condição bucal do paciente. O objetivo do presente estudo foi investigar os polimorfismos rs4880 (*SOD2* 47 C/T), rs7943316 (*CAT* -21 A/T), rs1800629 (*TNF- α* -308 G/A) e rs1800795 (*IL-6* -174 G/C) e possíveis associações com ocorrência e severidade de MO quimioinduzida em pacientes oncopediátricos. Realizou-se uma pesquisa observacional transversal. Amostras de epitélio bucal de 95 crianças ou adolescentes com leucemias ou linfomas que passaram por tratamento quimioterápico foram coletadas e o DNA genômico foi extraído. Os polimorfismos foram detectados por PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*) e os resultados observados em gel de poliacrilamida 6%, corado com nitrato de prata. Dados demográficos e informações sobre ocorrência da MO foram obtidos de prontuários da equipe odontológica. Informações sobre severidade foram limitadas aos primeiros 60 dias de tratamento e obtidas a partir de registros completos de OAG, onde o grau 1 indica ausência de alteração bucal, o grau 2 indica alterações leves/moderadas e o grau 3 indica mucosite oral grave (MOG). Foi realizada estatística descritiva e inferencial, utilizando os testes T Student, Qui-quadrado e Exato de Fisher, com $p \leq 0,05$. A média de idade para a amostra foi de 10 anos, com predomínio do sexo masculino (57,89%), e o tipo de câncer mais comum foi a leucemia linfoblástica aguda (74,73%). O sexo feminino foi considerado fator de proteção para ocorrência de MO (RR=0,78; IC [0,64;0,96]). Não foi detectada associação entre os polimorfismos e a ocorrência de MO. Para a análise de severidade, o genótipo AA para o gene *CAT* foi mais frequente em indivíduos com MOG ($p=0.04$, RR = 1,82; CI = [1,13;2,91]), e o genótipo GA para o gene *TNF- α* foi mais frequente em indivíduos sem MOG ($p=0.03$), não sendo possível gerar uma medida de efeito para a associação. Para os genes *SOD2* e *IL-6* os genótipos mais frequentes foram CT e GG respectivamente em todos os grupos ($p>0.05$). Conclui-se que o genótipo AA de rs7943316 pode contribuir com a severidade da mucosite. Os resultados para rs1800629 são inconclusivos, sendo necessários estudos de severidade da MO com tamanhos amostrais maiores para confirmar as associações observadas. Estudos genéticos visam traçar o perfil molecular do paciente, permitindo a criação de modelos preditivos efetivos e elaboração de plano de tratamento personalizado.

Palavras-chave: Mucosite oral. Polimorfismos genéticos. Estresse oxidativo. Citocinas.

ABSTRACT

Oral mucositis (OM) is a painful inflammatory oral condition caused by chemotherapy in children, with great variability when it comes to how this adverse effect occurs in this population. Oxidative stress is known as a mediator of OM and pro-inflammatory cytokines contribute in the amplification of the immune response, worsening the patient's oral condition. This study aimed to investigate the frequency of polymorphisms rs4880 (*SOD2* 47 C/T), rs7943316 (*CAT* -21 A/T), rs1800629 (*TNF- α* -308 G/A) and rs1800795 (*IL-6* -174 G/C) and their possible associations with chemo-induced OM occurrence and severity in oncopediatric patients. This was an observational, cross-sectional research. Oral epithelial samples from 95 children or adolescents with leukemia or lymphoma submitted to chemotherapy were collected and the genomic DNA was extracted. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were assessed with PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*) and fragments were observed in 6% polyacrilamide gels stained with silver nitrate. Demographic data and information concerning occurrence of OM were obtained from dental charts of the multidisciplinary oral care team. Information on OM severity was limited to the first 60 days of treatment and obtained from appropriately filled OAG registers, in which the score 1 represents absence of oral alterations, score 2 refers to mild to moderate oral alterations, and score 3 corresponds to severe oral mucositis (SOM). Descriptive and inferential statistics were performed with Student's T test, Chi-squared and Fisher's Exact tests, with $p \leq 0.05$. The mean age for the entire sample was 10 yo, and the majority was comprised by male individuals (57.89%). The female sex was considered a protective factor for OM occurrence (RR=0.78; CI [0.64;0.96]) The most common cancer type was acute lymphoblastic leukemia (74.73%). No associations between the SNPs and OM occurrence were detected. For the OM severity analysis, the AA genotype for *CAT* was more frequent amongst SOM individuals ($p=0.04$, RR = 1.82; CI = [1.13;2.91]) while the GA genotype for *TNF- α* was the most frequent amongst individuals without SOM ($p=0.03$). For *SOD* and *IL-6*, the most frequent genotypes were CT and GG respectively for all groups ($p>0.05$). In conclusion, the AA genotype for rs7943316 could influence OM severity. Due to the impossibility of generating a confidence interval to support the observed associations, data on rs1800629 are inconclusive. OM severity studies with larger sample sizes are encouraged. Genotype combination analysis are still to be carried out. Genetic studies aim unravel the patient's molecular profile, allowing the development of efficient predictive models and the elaboration of accurate treatment plans.

Keywords: Oral mucositis. Genetic polymorphisms. Oxidative stress. Cytokines.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LLA – Leucemia Linfoblástica Aguda

LMA – Leucemia Mielóide Aguda

QT – Quimioterapia

RT – Radioterapia

MO – Mucosite oral

MOG – Mucosite oral grave

DNA – *Desoxyribonucleic acid*, ácido desoxirribonucleico

ROS – *Reactive oxygen species*, espécies reativas de oxigênio

RNS – *Reactive nitrogen species*, espécies reativas de nitrogênio

NF- κ B – *Nuclear factor κ B*, fator nuclear κ B

TNF- α – *Tumor necrosis factor α* , fator de necrose tumoral α (*TNF- α* , gene)

IL-6 – Interleucina 6 (*IL-6*, gene)

SOD – Superóxido dismutase 2 (*SOD2*, gene)

CAT – Catalase (*CAT*, gene)

GSH – Glutathiona peroxidase

MTX – Metotrexato

5-FU – 5-fluoracil

MTHFR – Metilenotetrahidrofolato redutase

TYMS – Timidilato sintase, gene

ABCG2 – *ATP-binding cassette* subfamília G

ABCC2 – *ATP-binding cassette* subfamília C

miR-1206 – microRNA 1206, gene

SUMÁRIO

Introdução	12
1. Câncer infanto-juvenil	12
2. Mucosite oral quimioinduzida	13
2.1.Mucosite oral e estresse oxidativo	15
2.2.Mucosite oral e citocinas pró-inflamatórias.....	17
3. Polimorfismos genéticos e mucosite oral	19
3.1.Genes <i>SOD2</i> e <i>CAT</i>	21
3.2.Genes <i>TNF-α</i> e <i>IL-6</i>	22
CAPÍTULO 1: Genetic polymorphisms of genes involved in oxidative stress and inflammatory management in Brazilian oncopediatric patients with chemo-induced oral mucositis	24
Introduction.....	26
Material and Methods	27
<i>Research ethics</i>	27
<i>Eligibility criteria and OM diagnosis</i>	27
<i>Sample collection and DNA isolation</i>	29
<i>Genotyping of single-nucleotide polymorphisms (SNPs)</i>	29
<i>Statistical analysis</i>	29
Results.....	30
<i>Characteristics of the studied population</i>	30
<i>Polymorphism frequency and OM occurrence</i>	31
<i>Polymorphism frequency and OM severity</i>	31
Discussion	33
Conclusion	36
Conflict of Interest	36
Acknowledgements.....	36
References.....	37
CONSIDERAÇÕES GERAIS	41
CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	44
ANEXOS	51
APÊNDICE I	56
APÊNDICE II	58

INTRODUÇÃO

1. Câncer infanto-juvenil

O câncer infanto-juvenil compreende todas as neoplasias que acometem indivíduos com idade entre 0 e 19 anos, sendo a principal causa de mortes por doença na infância (1). A ocorrência de câncer nessa população é mais rara se comparada a adultos e idosos, e sua provável etiologia está relacionada predominantemente a questões intrínsecas do paciente, como fatores genéticos hereditários e fatores imunológicos, ao invés de exposição a fatores carcinogênicos ambientais (2).

Para o período entre 2015 e 2030, cerca de 6,7 milhões de novos casos de câncer infanto-juvenil são previstos ao redor do mundo, sendo 90% destes em países de baixa renda (3). No Brasil, para o triênio 2020-2022, são esperados aproximadamente 138 e 139 novos casos por milhão para crianças e adolescentes do sexo masculino e feminino, respectivamente (4).

Dentre todos os tipos de neoplasias pediátricas, as leucemias, em especial a leucemia linfoblástica aguda, e os linfomas ocupam posição de liderança em termos de taxa de incidência global para o grupo etário de 0 a 14 anos e de 15 a 19 anos, respectivamente (5).

“Leucemia” é o nome dado ao tipo de câncer que se origina na medula óssea a partir de qualquer célula precursora do tecido sanguíneo (6). As formas agudas dessa doença são as mais frequentes entre crianças e adolescentes, em especial o subtipo linfoide agudo (LLA), que se origina a partir de células precursoras de grande parte dos leucócitos, e o mielóide agudo (LMA), com origem principalmente em precursores de plaquetas e hemácias (7).

Já os linfomas são neoplasias derivadas de linfócitos, apresentando classificação relativamente heterogênea a depender do tipo e estágio de maturação das células neoplásicas de origem, e das características histológicas e imunofenotípicas de células do microambiente tumoral. Numa classificação geral, podem ser divididos em linfomas de Hodgkin, que apresentam células multinucleadas de Reed-Sternberg em sua composição, e linfomas não-Hodgkin, que não apresentam tais células (8).

No Brasil, cerca de 3% de toda a população entre 0 e 19 anos apresenta algum tipo de neoplasia, e é possível observar que o cenário global se repete: as leucemias ocupam primeiro lugar quanto à prevalência nessa população, representando cerca de 33% dos casos na faixa etária dos 0 a 14 anos e 26% na faixa de 0 a 19 anos, sendo seguidas pelos linfomas, que correspondem a 14% dos casos de 0 a 19 anos (9).

Para ambos os tipos de neoplasias, o tratamento clássico e adotado pelos sistemas públicos de saúde é a quimioterapia tradicional (QT), podendo ser combinada com alguma outra forma de tratamento para os linfomas, a exemplo da radioterapia (RT) (10,11). São frequentemente utilizados protocolos que incluem agentes estomatotóxicos, ou seja, que causam toxicidade em tecidos bucais, a exemplo de drogas de efeito imunossupressor (metotrexato e ciclofosfamida), antibióticos de efeito antitumoral (daunorrubicina e bleomicina), inibidores mitóticos (vincristina) e inibidores da topoisomerase (etoposídeo) (12-14).

2. Mucosite oral quimioinduzida

A mucosite oral (MO), também chamada de estomatite, é uma das manifestações orais mais comuns decorrentes de QT em crianças, com prevalência podendo chegar a 90% se considerados apenas indivíduos abaixo dos 12 anos de idade (15). Esse efeito adverso está associado, dentre outros fatores, à toxicidade indiscriminada de agentes antineoplásicos frente a tecidos com taxas de proliferação celular naturalmente elevadas, a exemplo dos tecidos epiteliais de mucosa (16).

A MO consiste em uma reação inflamatória, por vezes dolorosa e ulcerativa, que acomete todo o sistema gastrointestinal, principalmente a cavidade bucal nas regiões de lábios, língua, palato, mucosa labial e gengivas (17). Clinicamente, apresenta-se entre 7 e 14 dias após o início do ciclo quimioterápico na forma de áreas eritematosas em regiões de mucosa não-queratinizada, podendo progredir para lesões ulcerativas características recobertas por pseudomembrana (18).

A incidência de MO está associada a fatores como tipo de câncer e regime quimioterápico, dosagem e duração do tratamento, além de questões intrínsecas do paciente, como aspectos hematológicos, sexo, idade e polimorfismos genéticos (19-22). Apesar de uma maior incidência de inflamação bucal ser esperada para pacientes mais

juvêns submetidos à QT, as taxas de prevalência de MO e a forma de manifestação desse efeito adverso variam para essa população, havendo, por exemplo, acometimento de sítios distintos da mucosa bucal em pacientes pediátricos com tumores sólidos em comparação àqueles com neoplasias hematológicas (23,24).

Em seu grau mais severo, a mucosite oral grave (MOG) provoca declínio na qualidade de vida do paciente oncológico em decorrência das seguintes morbidades: dor causada pelas lesões de mucosa, que prejudica a ingestão de alimentos e deglutição provoca comprometimento nutricional; estabelecimento de infecções locais ou sistêmicas devido à colonização das úlceras por micro-organismos da microflora oral; necessidade de diminuição ou interrupção temporária do tratamento quimioterápico, afetando o prognóstico do paciente (25). Além disso, a MOG acarreta no aumento de custos de hospitalização por paciente devido à necessidade de maior utilização de recursos hospitalares (medicações opioides, suplementos alimentares, sondas nasogástricas ou gastroenterais) e ao maior tempo de internação associado a esse efeito adverso, calculado em aproximadamente 14 dias (26).

O processo de desenvolvimento e progressão da MO quimioinduzida pode ser dividido, de forma geral, em cinco fases. A **fase de iniciação** se dá imediatamente após a administração dos agentes antineoplásicos, sendo caracterizada pela morte de células epiteliais basais da mucosa por danos diretos ao DNA e consequente produção de radicais livres, a exemplo das espécies reativas de oxigênio (do inglês, *reactive oxygen species*, ROS) (27).

As ROS são responsáveis por desencadear a segunda fase, denominada **fase de geração de sinais**, na qual diversas vias de sinalização pró-inflamatórias e pró-apoptóticas são ativadas. Alguns destes sinais, a exemplo do fator nuclear κ B (NF- κ B), regulam positivamente a produção de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e a interleucina 6 (IL-6), e estimulam a transcrição de genes de resposta ao estresse oxidativo, como o gene da enzima antioxidante superóxido dismutase. Estas citocinas retroalimentam suas próprias vias de síntese na terceira fase da progressão da doença, a **fase de amplificação de sinal**, na qual a resposta inflamatória progride erodindo o tecido de mucosa (28).

Na **fase de ulceração**, há perda de equilíbrio entre os níveis de morte e divisão celular dentro do tecido com decorrente depleção de células epiteliais e eventual exposição das

camadas de submucosa, sendo comum a colonização das lesões por micro-organismos e ocorrência de infecções locais. Por fim, a última fase, denominada **fase de cicatrização**, consiste no restabelecimento da integridade da mucosa bucal, e geralmente ocorre de forma espontânea após o fim do ciclo de QT com o envio de sinais de proliferação, migração e diferenciação celular pelas células mesenquimais dos tecidos de submucosa às células que margeiam as úlceras (29).

Dessa forma, é possível notar que os aspectos fundamentais para o desencadeamento e progressão da mucosite, especialmente nas fases iniciais, são o estresse oxidativo seguido de uma extensiva resposta inflamatória tecidual.

2.1. Mucosite oral e estresse oxidativo

O estresse oxidativo pode ser definido, de forma simplificada, como um estado de perturbação entre a produção de compostos oxidantes, ou radicais livres, dentro de um organismo e a capacidade de seu sistema antioxidante endógeno de neutralizá-los (30). Os radicais livres são classificados em espécies reativas de oxigênio ou espécies reativas de nitrogênio (RNS). Os ROS compreendem radicais como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e a hidroxila (OH^{\cdot}) assim como formas mais estáveis, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), enquanto as RNS abrangem o óxido nítrico e seus derivados (31).

Os ROS ocorrem naturalmente dentro das células vivas, e seu maior centro de produção é a mitocôndria, através da respiração celular. Portanto, processos de regulação do equilíbrio redox dentro de uma célula viva são necessários, buscando manter níveis baixos e constantes de radicais livres no meio intracelular não apenas para evitar que causem danos a biomoléculas essenciais, mas também por estes atuarem como componentes importantes de vias de sinalização (32). Porém, quando o equilíbrio REDOX é perdido, seja por altos níveis de moléculas oxidantes liberados no meio ou em decorrência de uma diminuição da eficiência do sistema antioxidante endógeno, os radicais em excesso provocam danos a componentes celulares como DNA e lipídios de membrana, podendo levar à morte celular (33).

Os compostos antioxidantes atuam através de três vertentes distintas: podem trabalhar de forma a evitar a geração de novos oxidantes, podem realizar a varredura dos radicais já produzidos e também recuperar os danos causados pelos mesmos. Sua classificação

abrange antioxidantes endógenos, ou seja, aqueles gerados dentro das células e exógenos, obtidos necessariamente através da alimentação (34).

Os antioxidantes endógenos compreendem compostos enzimáticos, a exemplo da glutathione peroxidase, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), e são considerados a primeira linha de defesa frente ao estresse oxidativo. As duas últimas, SOD e CAT, apresentam ação encadeada, sendo responsáveis pela neutralização dos radicais superóxido ($O^{\cdot-}$) e do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A SOD é responsável por catalisar a reação de dismutação de duas moléculas de $O^{\cdot-}$ em H_2O_2 e pode apresentar-se em três isoformas distintas com cofatores metálicos específicos - a SOD1, com localização citoplasmática; a SOD2, enzima mitocondrial; e a SOD3, a isoforma extracelular (35). Já a enzima CAT apresenta-se em conformação tetramérica com um grupo heme em cada subunidade de sua estrutura, sendo responsável pela neutralização das moléculas H_2O_2 em água e oxigênio molecular (36).

Antioxidantes endógenos não enzimáticos correspondem a compostos que exercem função de varredura dos radicais em nosso organismo, a exemplo das proteínas quelantes ou ligadoras de íons metálicos como a ferritina, transferrina, albumina, lactoferrina etc. Também entram nesse grupo compostos de baixo peso molecular, como coenzima-Q10, glutathione e ácido úrico (37). Por fim, os antioxidantes exógenos são aqueles necessariamente adquiridos através de uma dieta rica em frutas e vegetais, como carotenos, licopenos, vitamina C e E, e minerais, estando associados a uma maior capacidade antioxidante do organismo (38).

No que tange a relação do estresse oxidativo e a MO, este tem sido proposto como mediador da toxicidade de tratamentos antineoplásicos. Ortiz *et al.*(39) reportam a ocorrência de um estado hiper-oxidativo nas mitocôndrias de células bucais de ratos com MO radioinduzida logo após a irradiação, e sugere que este estado leva à disfunção mitocondrial com liberação de ROS no citosol e consequente ativação do inflamassoma NLRP3. A ativação do inflamassoma NLRP3 está associada à ativação de NF- κ B, criando um ciclo vicioso de retroalimentação na síntese de citocinas pró-inflamatórias mesmo após o encerramento das sessões de RT.

Em relação ao tratamento quimioterápico, Yoshino *et al.*(40) demonstraram que os estágios iniciais da MO estão associados a altos níveis de peroxidação lipídica, um dos efeitos do estresse oxidativo sobre lipídios de membrana, e à alteração do estado REDOX

das células de mucosa da bochecha de ratos tratados com o quimioterápico 5-fluoracil (5-FU). Já Ahmed *et al.*(41) observaram aumento nos níveis de malondialdeído, um biomarcador do estresse oxidativo, e diminuição de atividade da glutatona peroxidase (GSH), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) nas mucosas vestibular e lingual de camundongos submetidos a infusões com metotrexato (MTX). Outros autores também reportam o potencial comprometimento do sistema de defesa antioxidante endógeno provocado por este quimioterápico, possibilitando extensos danos teciduais (42-44).

Outra linha de evidência que também sugere a correlação entre mucosite e estresse oxidativo são os estudos de intervenção relacionados a tratamento da MO. Yan *et al.*(45) reportaram redução dos efeitos estomatotóxicos do 5-fluoroacil na mucosa intestinal de ratos através da ingestão de uma enzima SOD recombinante, observando seu potencial terapêutico para a mucosite. Diversos estudos também reportam os efeitos benéficos de substâncias com propriedades antioxidantes de varredura no tratamento das lesões de mucosa derivadas de terapia anticâncer, como por exemplo a camomila e a calêndula (46), a melatonina (47), a vitamina E (48) e o canabidiol (49).

Ainda no âmbito de manejo da mucosite, o tratamento através de protocolos laserterapia de baixa intensidade, tanto de forma terapêutica quanto de forma preventiva, tem se mostrado bastante eficaz quanto à diminuição da duração e da incidência da MO em pacientes oncológicos (50). Apesar de seu mecanismo de ação ainda não ter sido completamente elucidado, evidências demonstram que o efeito benéfico da laserterapia em diversos cenários está associado ao manejo do estresse oxidativo, seja estimulando as defesas antioxidantes ou estabilizando a produção de ROS em células epidérmicas (51-53).

2.2. Mucosite oral e citocinas pró-inflamatórias

O estresse oxidativo é reconhecidamente um mediador de reações inflamatórias primárias já que os subprodutos gerados com o dano oxidativo a biomoléculas essenciais são reconhecidos por receptores Toll-like (TLRs) e NOD-like (NLRs), ambos responsáveis por desencadear a ativação de resposta imune inata dentro de células animais através de inflamassomas e do fator de transcrição NF- κ B (54).

Como previamente mencionado, o modelo patobiológico contemporâneo da MO inclui a ativação do NF- κ B e consequente regulação positiva de várias citocinas pró-

inflamatórias a exemplo do fator de necrose tumoral α (TNF- α) e da interleucina 6 (IL-6), como consequência do tratamento antineoplásico (QT ou RT). Estas citocinas, por sua vez, reforçam a via de ativação do próprio NF- κ B, ampliando assim a resposta inflamatória tecidual (55).

O TNF- α é uma proteína homotrimérica produzida principalmente por macrófagos, linfócitos T e células NK (do inglês, *natural-killer*) e está envolvida na ativação de outros mensageiros pró-inflamatórios, a exemplo das quimiocinas, além de participar de vias de sinalização que direcionam à morte celular (56). Já a IL-6 é produzida nos sítios de inflamação aguda, promove a proliferação e diferenciação de células T-auxiliares e maturação de linfócitos B (57).

Morales-Rojas *et al.* (58) contribuíram para embasar o atual modelo de progressão da mucosite ao reportar níveis elevados de ambas as citocinas pró-inflamatórias em soro sanguíneo e saliva de pacientes pediátricos portadores de LLA já no quarto dia após infusão de MTX. Já Cardoso *et al.* (59) demonstraram, através de análises *in vitro*, que existe associação entre os níveis de TNF- α e interleucinas e o aumento na síntese de metaloproteinases de matriz em linhagens de fibroblastos de gengiva expostos a MTX e 5-FU. Essas enzimas são responsáveis por degradar proteínas de matriz extracelular e possivelmente agravariam o estado de perda de integridade da mucosa bucal sob efeito de agentes antineoplásicos.

Ainda no contexto de desenvolvimento e progressão da MO, Ramírez-Amador *et al.* (60) mostraram que as concentrações de ambas aumentaram de 4 a 12 dias após o fim do ciclo de QT na saliva de pacientes com leucemias agudas, e que esses níveis estavam relacionados à ocorrência de lesões bucais em adultos. Foi observado ainda que em indivíduos com concentrações mais altas de TNF- α já antes da QT (*baseline*), essas lesões foram mais prevalentes.

Bossi *et al.* (61), por outro lado, afirmaram que os valores basais dessas citocinas não seriam preditores relevantes da incidência de MO, mas sim as alterações nos níveis de interleucinas registradas a partir da terceira semana de tratamento. Em seu estudo com pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço submetidos a QT e RT, foi observado que o tratamento provoca níveis elevados de TNF- α e IL-6 em saliva, sendo estes associados à MOG.

3. Polimorfismos genéticos e mucosite oral

Polimorfismos genéticos ocorrem naturalmente em mais de 1% da população mundial, podendo ou não ter efeito funcional no organismo, e estudos farmacogenéticos de associação entre variações genéticas e susceptibilidade a toxicidades derivadas do tratamento do câncer são comuns (62).

Levando em consideração o aumento de mortalidade associado ao desenvolvimento de MOG e a variabilidade de incidência e de formas de manifestação da MO dentre os pacientes submetidos ao mesmo tratamento antineoplásico (63), estudos genéticos de associação ganham uma perspectiva interessante dentro deste contexto, por possibilitarem a descoberta de possíveis fatores preditivos.

Campbell *et al.* (64), por exemplo, demonstraram em sua revisão sistemática que a presença do polimorfismo de nucleotídeo único (do inglês, *single nucleotide polymorphism*, SNP) rs1801133 no gene *MTHFR*, responsável por codificar a metilenotetrahidrofolato redutase, está associada à ocorrência de MO em indivíduos submetidos a protocolos com MTX. A enzima MTHFR faz parte do metabolismo do MTX e tem sua atividade reduzida em indivíduos portadores do alelo raro.

Estudos prévios já relataram associações entre polimorfismos genéticos e a mucosite oral em pacientes oncopediátricos. O mesmo polimorfismo para *MTHFR* mencionado acima já foi estudado em crianças e adolescentes com linfoma não-Hodgkin, tendo sido associado a maior susceptibilidade à MO e a alterações em parâmetros hematológicos, como leucopenia e trombocitopenia (65).

Outro gene estudado no contexto da MO em crianças é o *TYMS* da enzima timidilato sintase, outra participante do metabolismo do MTX. Neste caso, o polimorfismo em questão se trata de uma variação no número de repetições *tandem* em uma região do gene responsável por acentuar sua frequência de expressão (*enhancer*). Radtke *et al.* (66) reportam que apresentar um maior número de repetições *tandem* para este polimorfismo está associado a uma menor incidência e severidade da mucosite em crianças com LLA. Entretanto, os resultados para este polimorfismo de repetição são conflitantes, pois um estudo recente por Oosterom *et al.* (67) afirma não haver associação deste polimorfismo com a MO.

Além do *MTHFR* e *TYMS*, outros genes relacionados à farmacodinâmica do MTX já foram estudados em crianças e associados com a MO. Viana *et al.*(68) avaliaram genes relacionados tanto ao metabolismo quanto ao efluxo celular desta droga em crianças e adolescentes com leucemia, reportando haver associação entre o polimorfismo rs2231142 no gene *ABCG2* e incidência de MO. Esse gene codifica uma das subunidades componentes do transportador ABC (do inglês, *ATP-binding cassette*) da subfamília G, responsável por realizar o efluxo de drogas em células da barreira hematoencefálica, dentre outros tecidos, e o SNP provocaria alteração na estrutura da proteína final, tornando-a funcionalmente defeituosa e reduzindo sua atividade. Já o SNP rs717620 no gene de outro transportador de efluxo de drogas, *ABCC2*, também já foi associado a maior susceptibilidade a toxicidades derivadas do tratamento com MTX, dentre elas a MO, devido às altas concentrações plasmáticas desta droga provocadas pela variante rara do gene (69).

Em relação a outros genes, Gutierrez-Camino *et al.* (70) relatam que a presença do polimorfismo rs2114358 no gene de microRNA *miR-1206* resulta numa chance quase 4 vezes maior de pacientes pediátricos com LLA desenvolverem MO durante o tratamento. Este SNP provocaria instabilidade no formato do microRNA maduro final, o que reduziria a sua concentração dentro da célula.

Para genes que codificam marcadores inflamatórios, os estudos envolvem pacientes adultos com tumores sólidos de cabeça e pescoço, sendo esse tipo de neoplasia frequentemente tratado com uma combinação de QT e RT. Mlak *et al.* (71) demonstraram que o polimorfismo rs1799964 na região promotora do gene *TNF- α* está associado a níveis mais altos dessa citocina pró-inflamatória, assim como a um maior risco de MO em pacientes irradiados.

No que se refere aos genes envolvidos no manejo do estresse oxidativo, não há relatos de estudos de polimorfismos genéticos e incidência de mucosite oral na literatura. Estudos de SNPs nesses genes em pacientes oncológicos focam no prognóstico do paciente frente a protocolos de quimioterapia específicos (72,73) ou em outras toxicidades derivadas do tratamento (74).

Dado o papel do estresse oxidativo e da resposta inflamatória exacerbada no estabelecimento e progressão da MO, os genes que codificam enzimas antioxidantes, como *SOD* e *CAT*, e os genes que codificam citocinas pró-inflamatórias *TNF- α* e *IL-6* se

tornam alvos potencialmente promissores para estudos de fatores de risco para esta doença em pacientes pediátricos submetidos a tratamento quimioterápico.

3.1. Genes *SOD2* e *CAT*

O gene *SOD2* está localizado no braço longo do cromossomo 6, compreendendo 24.173 pares de bases e contendo 10 éxons. A proteína codificada por esse gene, a superóxido dismutase 2 apresenta 222 aminoácidos numa conformação homotetramérica, na qual cada subunidade se liga a um átomo de manganês, sendo também conhecida como Mn-SOD (75).

O polimorfismo rs4880 (47 C>T) do gene *SOD2* é comumente estudado em diversos contextos, como pancreatite alcóolica (76), doença renal (77), infertilidade idiopática (78), anemia falciforme (79), dentre outros. Consiste na substituição de uma citosina por uma timina na posição 47 do éxon 2, e configura uma troca de alanina por uma valina no resíduo 16 na proteína final (Ala16Val), alterando a conformação do peptídeo sinal da enzima. Essa substituição reduz de 30 a 40% a taxa de transferência da SOD2 através das membranas da mitocôndria durante o seu transporte em direção à matriz, levando a uma redução em sua atividade (80)

Esse polimorfismo já foi estudado no contexto do câncer de próstata (81), em mulheres dinamarquesas com câncer de mama (82) e foi associado a um pior prognóstico em mulheres chinesas com a mesma neoplasia (83). Alchkar *et al.*(74) observaram haver associação entre a presença desse polimorfismo e maior risco de hepatotoxicidade em adultos com LLA sob tratamento com asparaginase.

O gene *CAT*, se localiza no braço curto do cromossomo 11 com 33.138 pares de bases e 13 éxons. Cada subunidade codificada por esse gene apresenta 60 kDa. A enzima catalase está localizada principalmente no peroxissomo, sendo responsável por converter peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (84).

O polimorfismo rs7943316 (-21 A>T) é um dos 3 polimorfismos já registrados na região promotora do gene *CAT*. Consiste na troca de uma adenina por uma timina na posição -21, ou seja, bem próximo ao sítio de início da transcrição do gene, o que seria indicativo de uma diminuição na frequência de expressão gênica em indivíduos portadores do alelo raro (85). Já foi analisado em estudos envolvendo indivíduos com obesidade (86), anemia falciforme (87) e vitiligo (88).

Polimorfismos em ambas os genes, *SOD* e *CAT*, já foram estudados no contexto de doenças bucais inflamatórias, a exemplo do rs1001179 (-262 C/T) e o próprio rs4880 no estudo de Lee *et al.* (89), no qual observou-se maiores níveis das enzimas SOD e CAT na saliva de pacientes asiáticos com periodontite que eram heterozigotos para os alelos comuns em comparação aos alelos raros de cada polimorfismo.

3.2. Genes *TNF- α* e *IL-6*

O gene *TNF- α* está localizado no braço curto do cromossomo 6, compreendendo 2.770 pares de bases e contendo 4 éxons. A proteína codificada por esse gene, o fator de necrose tumoral α , apresenta 233 aminoácidos e 25,6 kDa (Genome Browser).

Polimorfismos no gene *TNF- α* são frequentemente estudados em populações caucasianas e asiáticas com doenças autoimunes, a exemplo de lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide, esclerose múltipla e espondilite anquilosante (90). Um dos polimorfismos mais comumente estudados é o rs1800629 (-308 G>A), no qual ocorre a troca de uma guanina por uma adenina na posição 308 da região promotora do gene. A presença do alelo raro provocaria maior atividade transcricional deste gene, com consequente aumento na produção da citocina e exacerbação da resposta inflamatória (91).

Além de ser estudado em indivíduos com doenças autoimunes (92-94), gastrite e câncer gástrico (95), este polimorfismo já foi estudado no contexto de doenças bucais inflamatórias. Al-Mohaya *et al.*(96) relatam maior frequência do alelo raro em indivíduos com líquen plano comparado a controles saudáveis, enquanto Shi *et al.*(97) concluiu em sua metanálise que, apesar das limitações dos estudos avaliados, este polimorfismo pode estar associado com a periodontite crônica em indivíduos asiáticos.

Já o gene *IL-6* está localizado no braço curto do cromossomo 7, compreende 6.119 pares de bases e contém 5 éxons. A citocina IL-6 é uma glicoproteína com 212 aminoácidos e 23,7 kDa (84).

Polimorfismos neste gene já foram associados a risco de desenvolver osteoporose (98), a LLA na infância (99) e a câncer gástrico em populações asiáticas (100). O polimorfismo rs1800795 consiste na troca de uma guanina por uma citosina na posição 174 da região promotora do gene, e essa troca está associada a maiores níveis de transcrição gênica e maiores níveis de síntese e circulação de IL-6 no sangue (101). Já foi

associado a doenças cardiovasculares (102) e a distúrbios metabólicos e obesidade em crianças brasileiras (103). No contexto de doenças bucais, já foi associado a periodontite agressiva generalizada (104).

Contudo, não há estudos analisando os polimorfismos citados (rs4880, rs7943316, rs1800629 e rs1800795) em uma população de pacientes oncopediátricos com mucosite oral quimioinduzida. Os estudos nessa população focaram em genes envolvidos na farmacodinâmica do MTX e outros, como mencionado previamente.

Baseado nos fatos descritos, o objetivo deste estudo foi investigar a associação dos polimorfismos rs4880 e rs7943316, em genes que codificam enzimas antioxidantes; e rs1800629 e rs1800795, em genes de citocinas pró-inflamatórias com a ocorrência e severidade de MO em pacientes oncopediátricos com neoplasias hematológicas. A identificação de fatores de risco para o estabelecimento deste efeito adverso nesta população possibilita a elaboração de modelos preditivos com maior sensibilidade e especificidade e a adoção de estratégias de intervenção terapêuticas e preventivas efetivas.

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

CAPÍTULO 1

O manuscrito a seguir foi submetido para publicação no periódico “*Journal of Applied Oral Science*”, Qualis A2, e encontra-se em análise.

GENETIC POLYMORPHISMS OF GENES INVOLVED IN OXIDATIVE STRESS AND INFLAMMATORY MANAGEMENT IN ONCO-PEDIATRIC PATIENTS WITH CHEMO-INDUCED ORAL MUCOSITIS

Marina de Castro Coêlho¹, José Maria Chagas Viana Filho¹, Beatriz Fernandes de Souza¹, Ana Maria Gondim Valença¹, Darlene Camati Persuhn², Naila Francis Paulo de Oliveira^{1,2,*}

¹Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB-Brasil

²Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB-Brasil

*Corresponding Author:

Dra. Naila Francis Paulo de Oliveira
Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Departamento de Biologia Molecular
Cidade Universitária – Campus I
João Pessoa-PB/ Brasil
CEP 58051-900
Phone: +55 83 3216-7643
nailafpo@dbm.ufpb.br

Este manuscrito é derivado da dissertação intitulada “Análise de polimorfismos nos genes *SOD2*, *CAT*, *TNF- α* e *IL-6* em pacientes oncopediátricos com mucosite oral quimioinduzida” (link para acesso ainda indisponível).

ABSTRACT

Introduction: Oral mucositis (OM) is a painful inflammatory oral condition caused by chemotherapy in children. Oxidative stress is known as a mediator of OM and pro-inflammatory cytokines contribute in the amplification of the immune response.

Objective: To investigate the frequency of rs4880 (*SOD2* 47 C/T), rs7943316 (*CAT* -21 A/T), rs1800629 (*TNF- α* -308 G/A) and rs1800795 (*IL-6* -174 G/C) and their possible associations with chemo-induced OM occurrence and severity in oncopediatric patients.

Methods: Oral epithelial samples from 95 children or adolescents with leukemia or lymphoma submitted to chemotherapy were collected and the genomic DNA was extracted. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were assessed with PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*) and fragments were observed in 6% polyacrilamide gels stained with silver nitrate. Demographic data and information concerning occurrence of OM were obtained from dental charts of the multidisciplinary oral care team. Information on OM severity was obtained from appropriately filled OAG registers. Descriptive and inferential statistics were performed with Student's T test, Chi-squared and Fisher's Exact tests, with $p \leq 0.05$.

Results: The mean age for the entire sample was 10 years old and its majority consisted in male individuals (57.89%). The female sex was considered a protective factor for OM occurrence (RR=0.78; CI [0.64;0.96]). No associations between the SNPs and OM occurrence were detected. The AA genotype for *CAT* contributed to OM severity ($p=0.04$, RR = 1.82; CI = [1.13;2.91]) and the GA genotype for *TNF- α* was the most frequent amongst individuals without severe OM ($p=0.03$). For *SOD* and *IL-6*, the most frequent genotypes were CT and GG respectively for all groups ($p>0.05$). **Conclusion:** the AA genotype for rs7943316 could be a risk factor for severe OM. Data on rs1800629 are inconclusive. Severity analysis with larger sample sizes are encouraged.

Key words: Oral mucositis. Genetic polymorphism. Oxidative stress. Cytokines.

INTRODUCTION

Oral mucositis (OM) is a common debilitating adverse effect of anticancer treatments characterized by erythema and ulceration of the oral mucosa. It directly affects the quality of life of oncologic patients since even the non-ulcerative forms of this disease may be painful, compromising oral functions such as chewing and swallowing¹. Complications of severe OM include the routinely use of opioid medication, parenteral feeding dependence and the development of systemic infections, possibly leading to treatment discontinuation².

Oxidative stress plays an important role in the establishment of this condition since the initiation stage of OM development involves reactive oxygen species (ROS) generation during the apoptotic events triggered immediately after the administration of a cytotoxic agent amongst epithelial basal cells³. Increased levels of lipid peroxidation have been detected in the early stages of chemo-induced OM in mice, and have been associated with alterations in the intracellular redox equilibrium of oral epithelial cells⁴.

Cytokines TNF- α and IL-6 also play an important role in OM progression since they act as regulators of the inflammatory response^{5,6}. Their concentrations in saliva increase 4 to 12 days after chemotherapy in adults, and these levels were associated with the occurrence of oral lesions⁷. Also, elevated levels of plasma TNF- α at the time of diagnosis have been associated with higher risks of developing OM during chemotherapy in acute lymphoblastic leukemia (ALL) pediatric patients⁸.

OM prevalence, severity and form of manifestation varies in the pediatric cancer population^{9,10}, making it an interesting target for genetic analysis. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes involved in drug metabolism (*ABCC2*, rs717620; *MTHFR*, rs1801133) and cell signaling pathways (*miR-1206*, rs2114358) have been associated to the incidence of chemo-induced OM in pediatric patients with blood cancer¹¹⁻¹³. However, there are no reports on the relation of genes involved in oxidative stress management and inflammatory response in the context of chemo-induced OM when considering this population.

Polymorphisms in the antioxidant enzymes' genes superoxide dismutase 2 (*SOD2*) and catalase (*CAT*) have been previously studied in the context of inflammatory

oral diseases such as periodontal disease, with rs4880 (*SOD2* 47 C/T) being associated with susceptibility to treatment response¹⁴. For pro-inflammatory cytokines tumor necrosis factor α and interleukin 6, rs1800795 (*IL-6* -174 G/C) has been associated with aggressive periodontal disease¹⁵ and Guimarães *et al.*¹⁶ (2007) report that rs1800629 (*TNF- α* -308 G/A) is associated with recurrent aphthous stomatitis.

Therefore, the aim of the present study was to investigate the association of rs4880, rs7943316, rs1800629 and rs1800795 with the occurrence and severity of OM in children and adolescents with hematological cancers. The aforementioned SNPs are related to diminished levels of antioxidant enzymes¹⁷ or reduced expression of their coding genes¹⁸ as well as to elevated levels of circulating cytokines^{19,20}. Thus, we hypothesized that these polymorphisms contributed to the establishment and aggravation of this oral inflammatory condition.

MATERIAL AND METHODS

Research ethics and study design

The present study has been approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Paraíba (UFPB) (CAAE: 64249317.3.0000.5188). All procedures were also in accordance with the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards.

We performed a single-center, observational cross-sectional study, with field sample collection and laboratory analysis. Sample and data collection from a convenience sample of unrelated subjects took place at the Hospital Napoleão Laureano (HNL), a reference facility for cancer treatment in João Pessoa, PB – Brazil, from July/2018 to March/2021.

Eligibility criteria and OM diagnosis

Children and adolescents with primary diagnosis of leukemia or lymphoma who were being or had been previously submitted to chemotherapeutical treatment only, and who had been assessed for oral alterations by the multidisciplinary oral care team during treatment were included in this study. Exclusion criteria comprised patients without registries of oral examination by a calibrated professional of the oral care team during treatment; patients that were in no condition to perform sample collection (e.g.: in

isolation, intubated or severely debilitated) or whose caregiver did not consent to it; and those who were treated with a combination of chemo and radiotherapy.

All demographic information and data concerning beginning of treatment, occurrence and severity of OM were collected from the hospital's registration and management software *MV 2000 (MV Sistemas, Recife, PE – Brazil)* as well as from appropriately-filled dental charts. In regard to OM diagnosis, the tool of choice of the HNL multidisciplinary team for detecting this condition is the modified oral assessment guide (OAG), an easily-applicable tool made for evaluating oral alterations related to antineoplastic treatments in children²¹. It comprises 8 points of assessment that are commonly stricken by inflammation during cancer treatment (voice, swallowing, lips, tongue, saliva, labial/palate mucosa, labial mucosa, and gingiva) and, for each point, a scale from 1 to 3 is used for grading the severity of inflammation: grade 1 indicates normality of appearance/function, grade 2 indicates mild or moderate OM and grade 3 indicates severe OM (SOM).

To be considered for DNA sample collection, patients could be in any phase of their chemotherapeutical treatment (induction, remission or maintenance). However, all data on OM diagnosis considered for our analysis referred to the initial phase of treatment (induction), which is when they are being monitored by HNL's oral care team and are usually submitted to high-dose chemotherapy, with higher chances of developing the condition.

For the OM occurrence analysis, patients were divided into two groups:

- **Group I** comprised individuals who did not present OM in the induction phase of leukemia or lymphoma treatment;
- **Group II** included individuals who developed OM in the same period, irrespective of its severity.

For the OM severity analysis, only patients from group II with a thoroughly- filled OAG severity grading scale recorded in their dental charts were included. Our analysis considered the oral examinations performed in the first 60 days of treatment for each patient in an attempt to reduce bias due to treatment duration. Therefore:

- **Group III** included individuals with a mild case of OM or without OM in the first 60 days of treatment;
- **Group IV** included individuals with SOM in the same period.

Sample collection and DNA isolation

Oral mucosa cells were collected from a one-minute mouthwash with 6 mL of sterilized dextrose (3%) followed by addition of 3 mL of an ethanol-based buffer. For those who were too young and, therefore, unable to perform a mouthwash, oral epithelial cells were collected with aid of an Ayre spatula²² (*Cralplast, Cotia-SP, Brazil*).

Each sample was centrifuged (3,000 rpm, 15 min) and the supernatant was discarded. The pelleted epithelial cells received 500 μ L of lysis solution before storage at -20°C. Genomic DNA was purified with ammonium acetate according to Aidar & Line²³ (2007) and quantification was performed in a spectrophotometer *Nanodrop 2000* (*ThermoFischer Scientific, Waltham-MA, USA*). Samples were considered pure when the mean value of two OD 260/280 ratios was equal to 1.8 or higher.

Genotyping of single-nucleotide polymorphisms (SNPs)

SNPs were selected using the dbSNP database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>) and were chosen based on functional significance. Minor allele frequency according to 1000Genomes database is 0.41 for rs4880, 0.48 for rs7943316, 0.09 for rs1800629 and 0.14 for rs1800795.

All SNPs were analyzed with the restriction fragment length polymorphism technique (PCR-RFLP). Samples were amplified in 15 μ L reactions containing 7.5 μ L of GoTaq[®] G2 Hot Start Green Master Mix (*Promega Corporation, St. Madson - USA*), 1 μ L of each primer (10 μ M), 1 μ L of DNA and nuclease-free water.

For the oxidative stress management genes *SOD2* and *CAT*, both primer sets as well as the enzymatic digestion conditions were the same as previously described by Hernández-Guerrero *et al.*¹⁸ (2016). In regard to the inflammatory cytokine genes *TNF- α* and *IL-6*, these parameters were in accordance with Guimarães *et al.*¹⁶ (2007) and Karakus *et al.*²⁴ (2014), respectively.

2.1. Statistical analysis

For each polymorphism, the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was obtained using the Chi-squared (χ^2) goodness-of-fit test. Demographic data were analyzed using Student's T test for continuous variables (age) and χ^2 or Fisher's Exact for categorical ones (sex). For association analysis between genotype or allele frequency and OM occurrence/severity, χ^2 and Fisher's Exact tests were performed when appropriate. The relative risk and corresponding confidence interval were calculated for all associations

when possible. Data analysis was performed using the BioEstat 5.3 software (*Instituto Mamirauá, Tefé-AM, Brazil*) with a significance level of 5% and considering a confidence interval of 95%. p-values<0.05 were considered significant.

RESULTS

Characteristics of the studied population

The sample comprised 95 patients ranging from 03 to 19 years old (mean age = 10.36±4.84 years), and the majority of them (57.89%) were male individuals. Six types of cancer were present in our sample and the most frequent type was acute lymphoblastic leukemia (ALL) (74.73%) (Table 1).

Fifteen individuals did not present OM as outcome during the induction phase of chemotherapy (group I) while 80 children and adolescents developed OM at some point during this period, representing 84.21% of the complete sample (group II). Out of this total, information concerning OM severity in the first 60 days of treatment was available for only 43 individuals. They were categorized into mild or no OM (group III, n=23) and SOM (group IV, n=20).

When comparing groups I and II, significant differences were observed when considering the patients' sex: in group II, the observed frequencies were 63.75% and 36.25% for boys and girls respectively, while in group I, they were 26.67% and 73.33% (p=0.01, Fisher's Exact test). No significant differences were observed when considering the patients' age for any of the groups (p>0.05, Student's T test). Demographic data for the different groups are shown in Table 1.

Table 1. Demographic and cancer type data of the studied population.

<i>Demography</i>	Group I¹ (n= 15)	Group II² (n= 80)	P-value^{1,2}	Group III³ (n=23)	P-value^{1,3}	Group IV⁴ (n=20)	P-value^{1,4}	P-value^{3,4}
Age (years)	10.1 (±3.75)	10.4 (±5.04)	p>0.05 [‡]	8.78 (±4.83)	p>0.05 [‡]	10.95 (±4.75)	p>0.05 [‡]	p>0.05 [‡]
% boys	26.67	63.75	0.01 [#]	56.52		55		
% girls	73.33	36.25	RR=0.78; CI [0.64;0.96]	43.48	p>0.05 [#]	45	p>0.05 [#]	p>0.05 [*]
Cancer type	ALL	AML	APL	CML	HL	NHL		
%	74.73	12.63	03.16	02.11	02.11	05.26		

ALL = Acute lymphoblastic leukemia; AML = Acute myeloid leukemia; APL = Acute promyelocytic leukemia; CML = Chronic myeloid leukemia; HL = Hodgkin's lymphoma; NHL = non-Hodgkin's lymphoma. [‡]Student's T test; [#] Fisher's Exact test; ^{*}χ² test.

Polymorphism frequency and OM occurrence

Out of the 4 polymorphisms investigated in this research, only one, the rs4880 (*SOD2* 47 C/T), was not in accordance with the HWE ($p < 0.05$). Genotypic and allele frequencies of all 4 polymorphisms for all association analysis are shown in Table 2, and the fragment patterns observed for each SNP are shown in Figure 1.

For the polymorphism frequency x OM occurrence analysis, groups I and II were considered. The comparison between groups did not show any significant differences ($p > 0.05$). For *SOD2*, a higher frequency for the T allele and CT genotype was observed for both groups. For *CAT*, the AT genotype was the most frequent in the entire population and, although no significant differences were observed, the T allele was most frequent in the control group while the A allele prevailed in the OM group. For both *TNF- α* and *IL-6*, the G allele and the GG genotype were the most prevalent ones in the entire population (Table 2).

Polymorphism frequency and OM severity

For the polymorphism frequency x OM severity analysis, groups I, III and IV were considered. Data on OM severity were available for 43 children, out of which 46.51% presented the severe form of the disease ($n=20$).

For *CAT*, the comparison between genotypic frequencies of groups I, III and IV did not show significant differences. However, when partitioning the χ^2 contingency table, we observed that the AA genotype was the one with higher effect upon the outcome in group IV (individuals with SOM), when compared with individuals from group I (individuals without OM) ($p=0.04$, χ^2 test; RR=1.82; CI [1.13; 2.91]). Significant differences were observed for *TNF- α* . For the analysis involving groups I and IV, the GA genotype was more frequent among patients without OM ($p=0.03$, χ^2 test). This genotype was also more frequent in group III when partitioning the χ^2 contingency table of the group III x IV analysis ($p=0.0307$, χ^2 test). For *SOD* and *IL-6*, the most prevalent genotypes were CT and GG respectively ($p > 0.05$) (Table 2) and no differences were detected.

Table 2. Genotypic and allelic frequencies of the studied polymorphisms.

	Group I ¹ (n=15)	Group II ² (n=80)	P-value ^{1,2}	Group III ³ (n=23)	P-value ^{1,3}	Group IV ⁴ (n=20)	P-value ^{1,4}	P-value ^{3,4}
SOD2 genotype								
rs4880 (47 C/T)								
	CC	0		0		0		
	CT	09 (60%)	0,3853*	15 (65.22%)	1 [‡]	16 (80%)	0,2661 [±]	0.3271 [‡]
	TT	06 (40%)		8 (34.78%)		04 (20%)		
Allele frequency (%)								
	C	30	0.70033 [‡]	32.60	1 [‡]	40	0.4552 [‡]	0.6263 [‡]
	T	70		67.40		60		
CAT genotype								
rs7943316 (-21 A/T)								
	AA	01 (6.66%)		6 (26.08%)		7 (35%)	0.04*	
	AT	10 (66.67%)	0,1902*	13 (56.52%)	0.3036*	8 (40%)	RR = 1.82	0.5557*
	TT	04 (26.67%)		4 (17.40%)		5 (25%)	CI = [1.13; 2.91]	
Allele frequency (%)								
	A	40	0.2624*	54.35	0.3229*	55	0.3168*	0.8756*
	T	60		45.65		45		
TNF-α genotype								
rs1800629 (-308 G/A)								
	GG	11 (73.33%)		18 (78.26%)		19 (95%)		
	GA	04 (26.67%)	0,4213*	5 (21.74%)	1 [‡]	0	0.03*	0.0307*
	AA	0		0		01 (5%)		
Allele frequency (%)								
	G	86.67	0.3168 [‡]	89.13	0.9999 [‡]	95	0.3909 [‡]	0.4418 [‡]
	A	13.33		10.87		5		
IL-6 genotype								
rs1800795 (-174 G/C)								
	GG	10 (66.67%)		17 (73.91%)		18 (90%)		
	GC	04 (26.67%)	0,8354*	6 (26.09%)	0.3318*	02 (10%)	0,1915*	0.2503 [‡]
	CC	01 (6.66%)		0		0		
Allele frequency (%)								
	G	80	0.744506 [‡]	86.95	0.1799 [‡]	95	0.0665 [‡]	0.2754 [‡]
	C	20		13.05		5		

Group I = individuals who did not present OM during the induction phase of treatment. Group II = individuals who presented OM in the induction phase of treatment. Group III = individuals from group II with a mild case of OM or no OM in the first 60 days of treatment. Group IV = individuals from group II with SOM in the first 60 days of treatment. * χ^2 test; [‡]Fisher's Exact Test.

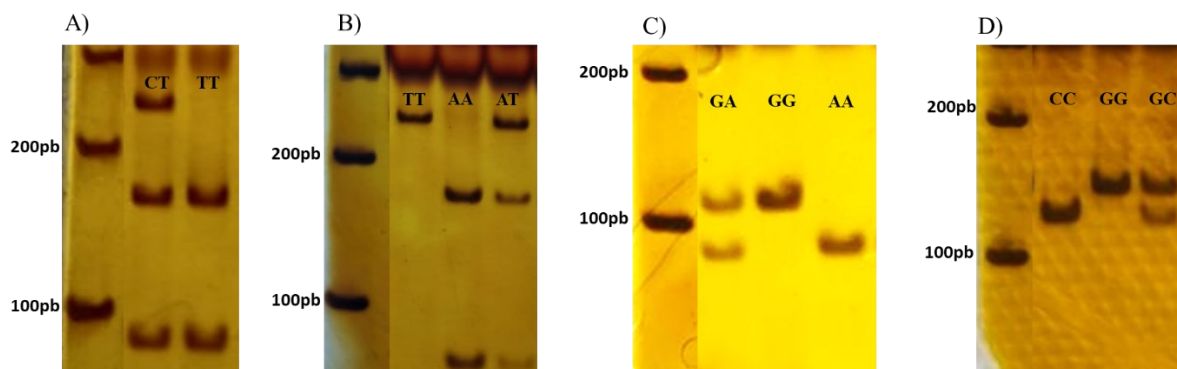


Figure 1. Fragment patterns observed for each SNP after RFLP. A) *SOD2* restriction fragments: CT (246, 157, 89 bp) and TT (157, 89 bp); B) *CAT* restriction fragments: TT (250 bp), AA (203, 47 bp) and AT (250, 203, 47 bp); C) *TNF-α* restriction fragments: GA (107, 87 bp), GG (107bp) and AA (87 bp); D) *IL-6* restriction fragments: CC (117bp), GG (139bp), GC (139, 117bp).

DISCUSSION

OM is a side effect of cancer treatment which has been associated with increased use of hospital resources and higher hospitalization costs². In the present study, we have evaluated four SNPs in genes related to oxidative stress management and inflammatory response, aiming to identify possible genetic biomarkers of OM occurrence and severity in children and adolescents with the most common types of childhood cancer: leukemias and lymphomas²⁵.

To our knowledge, this is the first study that has investigated SNPs involved in oxidative stress and inflammatory response considering specifically a group of pediatric cancer patients with OM since it was not possible to obtain information about the distribution of these polymorphisms in other pediatric populations with chemo-induced OM. This demonstrates the importance of more studies in this area.

In regard to demographic data, our sample was considerably young, with a mean age of 10 years old, and OM was the observed outcome for approximately 85% of all individuals. Younger age is one of the factors associated with the onset of this condition and it has been stated that OM prevalence may reach frequencies up to 90% when considering individuals under 12 years old^{1,26}.

Other aspects of our sample included a higher prevalence of the female sex in group I and this variable was associated to a reduced risk of OM development (RR=0.78; CI [0.64;0.96]). An epidemiological study by Feliciano *et al.*²⁷ (2018) reports higher incidence of childhood cancer among boys while data from the Brazilian National Cancer Institute (INCA) report the female sex as a factor related to better prognostics for childhood leukemia²⁸.

In regard to the genes involved in oxidative stress management, it was observed that the rs4880 (*SOD2*) frequencies were not in accordance with the HWE, similarly to other studies involving Brazilian populations²⁹⁻³¹. The CT genotype and T allele for this SNP were the most frequent in our population. The allelic frequencies of group II are comparable to those of the hypercholesterolemia group (C=37.5%; T=62.5%) from a study by Duarte *et al.*³² (2010) in which this SNP was associated to the condition and to lower MnSOD activity. Although no associations between this SNP and OM occurrence/severity were detected in our study, it would be expected to observe reduced enzymatic levels in our population and, consequently, an increased susceptibility to oxidative damage that might be associated with other SNPs in this gene or even with the epigenetic profile of *SOD2*.

The rs4880 consists of a C>T substitution at position 47 of the MnSOD gene and corresponds to a Ala16Val substitution in the signal peptide of the final protein, which alters its conformation and affects the enzyme's transportation from the cytoplasm to the mitochondrial matrix, being associated with diminished enzymatic activity¹⁷. The enzymes superoxide and catalase represent the first line of defense towards oxidative damage inside living cells. MnSOD, the SOD isoform which uses manganese ions as enzymatic co-factors, acts catalyzing the dismutation reaction of superoxide ions O_2^- generated in the mitochondria into hydrogen peroxide (H_2O_2). The following step for complete ROS neutralization is carried out by catalase, which converts the H_2O_2 into water and molecular oxygen³³.

For rs7943316 (*CAT*), although no significant differences were found for the allelic and genotypic frequencies between group I and II, it was possible to observe that the AA genotype contributed to OM severity ($p=0.04$, χ^2 test) when partitioning the contingency table. The AA genotype for this polymorphism has been associated with cerebral stroke in hypertensive men³⁴ and a study has recently shown that the dominant model AA *versus* AT+TT is associated with risk of preeclampsia³⁵. The rs7943316 consists of a A>T substitution in position 21 of *CAT* promoter region, and is associated with diminished expression levels¹⁸. It should be taken into account that the promoter region of *CAT* may be epigenetically modulated by CpG island hypermethylation when submitted to prolonged exposure to ROS³⁶. Therefore, higher levels of oxidative stress could still be observed even in the absence of the rare allele for rs7943316 due to epigenetic downregulation of *CAT* expression.

For the pro-inflammatory cytokines' genes, the GA genotype for rs1800629 (*TNF- α*) was more frequent in patients without OM (group I; $p=0.03$, χ^2 test) as well as in patients with a mild case of OM or no OM in the first 60 days of treatment (group III; $p=0.0307$, χ^2

test) when compared to those with SOM (group IV). The A allele was also slightly more frequent in group I (13.33%) when compared to group IV (5%), but no significant differences were found. The observed p-values suggest that bearing the GA genotype is associated with not developing severe cases of OM. However, it was not possible to calculate the relative risk or generate a confidence interval to support this association because of the null frequency of events (n=0) observed in the contingency table when assuming an over-dominant model (GA x GG+AA).

The rs1800629 consists of a G>A substitution at position 308 in the promoter region of *TNF- α* and is related to higher frequency of gene expression and higher levels of circulating cytokine, being previously associated with susceptibility to chronic periodontitis and diabetes mellitus type II²⁰. According to a review by El-Tahan *et al.*³⁷ (2016), *TNF- α* has several reported SNPs in its promoter region that are mostly studied in the context of autoimmune diseases and act either up or downregulation gene expression. However, study results regarding the role of these polymorphisms (including rs1800629) in this context are conflicting. All this considered, the possibility that the effect of one SNP upon *TNF- α* gene expression could be surpassed by the combined effect of various single-nucleotide variations, thus influencing the outcome of inflammatory diseases such OM, should not be disregarded, and further studies assessing SNP interactions become an interesting perspective on the matter.

For rs1800795 (*IL-6*) a higher frequency of the non-rare G allele and GG genotype were observed for all groups. The relation of rs1800795 with oral diseases has been previously explored. A recent meta-analysis by Zhao and Li³⁸ (2018) has suggested that the presence of the G allele for rs1800795 is a risk factor for periodontitis among Brazilians, increasing the risk of developing this condition in 34.9%. In the present study, although not significant, the frequency of the G allele was higher in group IV when compared to group I (p=0.06). This data suggests that perhaps with a larger sample an association with severity could be detected. The rs1800795 is a G>C substitution at position 174 of the *IL-6* promoter region, being associated with higher transcription frequency of the gene and increased levels of circulating cytokine¹⁹. IL-6 is a pleiotropic cytokine known to participate in the transition from innate to acquired immune responses, playing an important role in monocyte recruitment and differentiation into macrophages as well as B cell maturation³⁹.

For patients treated with chemotherapy, length of treatment has been cited as an important factor when considering duration and severity of OM, among other aspects⁴⁰. Therefore, we limited our analysis to those patients who had thorough records of OM

assessment with a complete OAG evaluation in the first 60 days of treatment in order to reduce bias due to drug accumulation. This resulted in small sample sizes that may not have been able to reflect possible associations. Other limitations of this study include relying on the correct filling of medical and dental charts by the multidisciplinary team as well as the lack of information concerning some of the patients. In spite of this, our data can guide further studies since this is the first research in which genes involved in the management of oxidative stress and inflammation have been investigated in the context of OM.

Genetic studies such as this are important contributions to precision medicine, a health care model which advocates for the construction of biological databases for each individual based on concepts of classical genetics, metabolomics and aspects of the patient's clinical phenotype, enabling the establishment of more accurate lines of treatment and/or prophylaxis. This is a promising perspective that could be applied for reducing treatment toxicity and improving the patients' survival rate in the context of pediatric cancer⁴¹.

CONCLUSION

Our results suggest that rs7943316 (*CAT* -21 A/T) might contribute to the severity of oral mucositis and that the AA genotype could represent a risk factor for severe cases of this condition. Data on rs1800629 (*TNF- α* -308 G/A) regarding disease severity are inconclusive. No associations were detected for rs4880 (*SOD2* 47 C/T) and rs1800795 (*IL-6* -174 G/C) in pediatric cancer patients with chemo-induced oral mucositis. Therefore, more studies on OM severity with larger sample sizes are encouraged.

CONFLICT OF INTEREST

All authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work has been financially supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) (407394/2016-8 and 434392/2018-9) and the Graduate Program in Dentistry - Universidade Federal da Paraíba, Brazil. MCC and JMCVF were supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil). We thank the HNL multidisciplinary oral care team for all the support and all the patients who were part of this research.

REFERENCES

1. Ribeiro ILA, Limeira RRT, Dias de Castro R, Ferreti Bonan PR, Valença AMG. Oral Mucositis in Pediatric Patients in Treatment for Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Environ Res Public Health*. 2017 Nov 28;14(12):1468. doi: 10.3390/ijerph14121468.
2. Villa A, Sonis ST. Mucositis: pathobiology and management. *Curr Opin Oncol*. 2015 May;27(3):159-64. doi: 10.1097/CCO.000000000000180.
3. Sonis ST. Oral mucositis in head and neck cancer: risk, biology, and management. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2013. doi: 10.1200/EdBook_AM.2013.33.e236.
4. Yoshino F, Yoshida A, Nakajima A, Wada-Takahashi S, Takahashi SS, Lee MC. Alteration of the redox state with reactive oxygen species for 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *PLoS One*. 2013 Dec 20;8(12):e82834. doi: 10.1371/journal.pone.0082834.
5. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Lee SR et al. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α Inhibitors in Therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 8;22(5):2719. doi: 10.3390/ijms22052719.
6. Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)*. 2012 Feb;122(4):143-59. doi: 10.1042/CS20110340.
7. Ramírez-Amador V, Zambrano JG, Anaya-Saavedra G, Zentella-Dehesa A, Irigoyen-Camacho E, Meráz-Cruz N, Ponce de León-Rosales S. TNF as marker of oral candidiasis, HSV infection, and mucositis onset during chemotherapy in leukemia patients. *Oral Dis*. 2017 Oct;23(7):941-948. doi: 10.1111/odi.12677.
8. Ye Y, Carlsson G, Agholme MB, Karlsson-Sjöberg J, Yucel-Lindberg T, Pütsep K, et al. Pretherapeutic plasma pro- and anti- inflammatory mediators are related to high risk of oral mucositis in pediatric patients with acute leukemia: a prospective cohort study. *PLoS One*. 2013 May 31;8(5):e64918. doi: 10.1371/journal.pone.0064918.
9. Ribeiro ILA, Silva SM, Limeira RRT, Bonan PRF, Valença AMG, Lima Neto EA, et al. Differences between the oral changes presented by patients with solid and hematologic tumors during the chemotherapeutic treatment. *J Appl Oral Sci*. 2019 Nov 25;28:e20190020. doi: 10.1590/1678-7757-2019-0020.
10. Hurrell L, Burgoyne L, Logan R, Revesz T, Gue S. The Management of Pediatric Oncology Inpatients With Oral Mucositis. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2019 Nov;41(8):e510-e516. doi: 10.1097/MPH.0000000000001546.
11. Gutierrez-Camino A, Oosterom N, den Hoed MAH, Lopez-Lopez E, Martin-Guerrero I, Pluijm SMF, et al. The miR-1206 microRNA variant is associated with methotrexate-

- induced oral mucositis in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenet Genomics*. 2017 Aug;27(8):303-306. doi: 10.1097/FPC.0000000000000291.
12. Liu Y, Yin Y, Sheng Q, Lu X, Wang F, Lin Z, et al. Association of ABCC2 -24C>T polymorphism with high-dose methotrexate plasma concentrations and toxicities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One*. 2014;9(3):e91384. doi: 10.1371/journal.pone.0082681.
 13. Lu S, Zhu X, Li W, Chen H, Zhou D, Zhen Z, et al. Influence of Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and A1298C Polymorphism on High-Dose Methotrexate-Related Toxicities in Pediatric Non-Hodgkin Lymphoma Patients. *Front Oncol*. 2021 Feb 26;11:598226. doi: 10.3389/fonc.2021.598226.
 14. Lee CY, Chang CH, Teng NC, Chang HM, Huang WT, Huang YK. Associations between the phenotype and genotype of MnSOD and catalase in periodontal disease. *BMC Oral Health*. 2019 Aug 30;19(1):201. doi: 10.1186/s12903-019-0877-3.
 15. Pirim Gorgun E, Toker H, Korkmaz EM, Poyraz O. IL-6 and IL-10 gene polymorphisms in patients with aggressive periodontitis: effects on GCF, serum and clinic parameters. *Braz Oral Res*. 2017 Jan 16;31:e12. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0012.
 16. Guimarães AL, Correia-Silva J de F, Sá AR, Victória JM, Diniz MG, Costa F de O, et al. Investigation of functional gene polymorphisms IL-1beta, IL-6, IL-10 and TNF-alpha in individuals with recurrent aphthous stomatitis. *Arch Oral Biol*. 2007 Mar;52(3):268-72. doi: 10.1016/j.archoralbio.2006.08.008.
 17. Wu J, Yu M, Huang L, Qian Y, Kong M, Kang Z, et al. Association of MnSOD gene polymorphism with susceptibility to Kawasaki disease in Chinese children. *Cardiol Young*. 2021 Feb;31(2):179-185. doi: 10.1017/S104795112000356X.
 18. Hernández-Guerrero C, Hernández-Chávez P, Romo-Palafox I, Blanco-Melo G, Parra-Carriedo A, Pérez-Lizaur A. Genetic Polymorphisms in SOD (rs2070424, rs7880) and CAT (rs7943316, rs1001179) Enzymes Are Associated with Increased Body Fat Percentage and Visceral Fat in an Obese Population from Central Mexico. *Arch Med Res*. 2016 Jul;47(5):331-339. doi: 10.1016/j.arcmed.2016.08.007.
 19. Jiménez-Sousa MA, Medrano LM, Liu P, Fernández-Rodríguez A, Almansa R, Gomez-Sanchez E, et al. IL-6 rs1800795 polymorphism is associated with septic shock-related death in patients who underwent major surgery: a preliminary retrospective study. *Ann Intensive Care*. 2017 Dec;7(1):22. doi: 10.1186/s13613-017-0247-8.
 20. Shi LX, Zhang L, Zhang DL, Zhou JP, Jiang XJ, Jin YL, et al. Association between TNF- α G-308A (rs1800629) polymorphism and susceptibility to chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *J Periodontal Res*. 2021 Apr;56(2):226-235. doi: 10.1111/jre.12820.

21. Cheng KK, Chang AM, Yuen MP. Prevention of oral mucositis in paediatric patients treated with chemotherapy; a randomised crossover trial comparing two protocols of oral care. *Eur J Cancer*. 2004 May;40(8):1208-16. doi: 10.1016/j.ejca.2003.10.023.
22. Jackson DP, Payne J, Bell S, Lewis FA, Taylor GR, Peel KR, et al. Extraction of DNA from exfoliative cytology specimens and its suitability for analysis by the polymerase chain reaction. *Cytopathology*. 1990;1(2):87-96. doi: 10.1111/j.1365-2303.1990.tb00333.x.
23. Aidar M, Line SR. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J*. 2007;18(2):148-52. doi: 10.1590/s0103-64402007000200012.
24. Karakus N, Yigit S, Rustemoglu A, Kalkan G, Bozkurt N. Effects of interleukin (IL)-6 gene polymorphisms on recurrent aphthous stomatitis. *Arch Dermatol Res*. 2014 Mar;306(2):173-80. doi: 10.1007/s00403-013-1406-x.
25. Steliarova-Foucher E, Colombet M, Ries LAG, Moreno F, Dolya A, Bray F, et al. International incidence of childhood cancer, 2001-10: a population-based registry study. *Lancet Oncol*. 2017 Jun;18(6):719-731. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30186-9.
26. Velten DB, Zandonade E, Monteiro de Barros Miotto MH. Prevalence of oral manifestations in children and adolescents with cancer submitted to chemotherapy. *BMC Oral Health*. 2017 Jan 20;17(1):49. doi: 10.1186/s12903-016-0331-8.
27. Feliciano SVM, Santos M de O, Pombo-de-Oliveira MS. Incidência e Mortalidade por Câncer entre Crianças e Adolescentes: uma Revisão Narrativa. *Rev. Bras. Cancerol*. [Internet]. 2018 Sep 28;64(3):389-96. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/revista/index.php/revista/article/view/45>
28. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Câncer na criança e no adolescente no Brasil: dados dos registros de base populacional e de mortalidade. INCA: Rio de Janeiro, 2008. 414 p.
29. da Cruz Jung IE, da Cruz IBM, Barbisan F, Trott A, Houenou LJ, Osmarin Turra B, et al. Superoxide imbalance triggered by Val16Ala-SOD2 polymorphism increases the risk of depression and self-reported psychological stress in free-living elderly people. *Mol Genet Genomic Med*. 2020 Feb;8(2):e1080. doi: 10.1002/mgg3.1080.
30. Kegler A, Caprara ALF, Pascotini ET, Arend J, Gabbi P, Duarte MMMF, et al. Apoptotic Markers Are Increased in Epilepsy Patients: A Relation with Manganese Superoxide Dismutase Ala16Val Polymorphism and Seizure Type through IL-1 β and IL-6 Pathways. *Biomed Res Int*. 2020 Mar 6;2020:6250429. doi: 10.1155/2020/6250429.
31. Flores AE, Pascotini ET, Kegler A, Gabbi P, Bochi GV, Barbisan F, et al. ALA16VAL-MnSOD gene polymorphism and stroke: Association with dyslipidemia and glucose levels. *Gene*. 2017 Sep 5;627:57-62. doi: 10.1016/j.gene.2017.05.055.

32. Duarte MM, Moresco RN, Duarte T, Santi A, Bagatini MD, Da Cruz IB, et al. Oxidative stress in hypercholesterolemia and its association with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism. *Clin Biochem.* 2010 Sep;43(13-14):1118-23. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.07.002.
33. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defense antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defense grid. *Alexan Jour Med.* 2018 Dec 54(4):287-293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
34. Vialykh EK, Solidolova MA, Bushueva OIu, Bulgakova IV, Polonikov AV. [Catalase gene polymorphism is associated with increased risk of cerebral stroke in hypertensive patients]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2012;112(8 Pt 2):3-7. Russian. PMID: 23390647.
35. Yassaee F, Salimi S, Etemadi S, Yaghmaei M. Comparison of CAT-21A/T Gene Polymorphism in Women with Preeclampsia and Control Group. *Adv Biomed Res.* 2018 Oct 24;7:133. doi: 10.4103/abr.abr_36_18.
36. Min JY, Lim SO, Jung G. Downregulation of catalase by reactive oxygen species via hypermethylation of CpG island II on the catalase promoter. *FEBS Lett.* 2010 Jun 3;584(11):2427-32. doi: 10.1039/c6tx00416d.
37. El-Tahan RR, Ghoneim AM, El-Mashad N. TNF- α gene polymorphisms and expression. *Springerplus.* 2016 Sep 7;5(1):1508. doi: 10.1186/s40064-016-3197-y.
38. Zhao B, Li R. The association between periodontitis and interleukin-6 genetic polymorphism -174 G/C: A meta-analysis. *Arch Oral Biol.* 2018 Dec;96:13-20. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.08.007.
39. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta.* 2011 May;1813(5):878-88. doi: 10.1016/j.bbamcr.2011.01.034.
40. Medeiros-Filho JB, Maia Filho EM, Ferreira MC. Laser and photochemotherapy for the treatment of oral mucositis in young patients: Randomized clinical trial. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017 Jun;18:39-45. doi: 10.1016/j.pdpdt.2017.01.004.
41. Vo KT, Parsons DW, Seibel NL. Precision Medicine in Pediatric Oncology. *Surg Oncol Clin N Am.* 2020 Jan;29(1):63-72. doi: 10.1016/j.soc.2019.08.005.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este trabalho teve como principal objetivo investigar questões referentes ao perfil genético de pacientes com câncer infanto-juvenil e a relação do mesmo com a ocorrência e severidade de um efeito adverso oral frequentemente debilitante para esta população, a mucosite oral. Este é o primeiro estudo a avaliar o desfecho MO em relação a polimorfismos de genes envolvidos no manejo do estresse oxidativo e na resposta inflamatória de crianças e adolescentes com leucemias e linfomas.

Neste trabalho, foi observado que o genótipo AA para o polimorfismo rs7943316 (*CAT*) foi mais frequente na análise de severidade da MO, sugerindo uma possível influência desse gene na forma de manifestação dessa condição. Estudos que reportam associação do genótipo AA deste polimorfismo com doenças são raros (105, 106), o que reforça a necessidade de mais estudos que visem avaliar este gene no contexto de doenças inflamatórias como a mucosite.

Também foi observada associação entre o genótipo GA para o polimorfismo rs1800629 (*TNF- α*) e não apresentar MOG como desfecho. Porém, devido à impossibilidade de gerar uma medida de efeito com respectivo intervalo de confiança para a associação, este resultado deve ser considerado com cautela. Para os SNPs rs4880 (*SOD2*) e 1800795 (*IL-6*), não foram detectadas associações dos mesmos com ocorrência ou severidade da MO.

No presente estudo, critérios rígidos para seleção da amostra foram definidos, em especial considerando-se o tempo decorrido desde o início do tratamento para a análise de severidade (60 dias), visando estabelecer associações genéticas claras e minimizar fatores que pudessem mascarar ou acentuar a real influência que os polimorfismos estudados pudessem exercer sobre os desfechos considerados (ocorrência/severidade da doença). Esses critérios, juntamente a fatores intrínsecos à instituição onde as coletas foram realizadas, a exemplo da baixa taxa de admissão de pacientes nos anos 2019-2020, geraram tamanhos amostrais menores que o esperado. Faz-se necessária, então, a realização de estudos com amostras maiores para confirmar os resultados aqui reportados e ampliar a compreensão do papel desses SNPs no contexto da MO quimioinduzida.

Todos os SNPs avaliados neste trabalho tiveram seu efeito analisado isoladamente sobre o desfecho. Porém, quando avaliados separadamente, polimorfismos genéticos representam apenas uma fração do risco genético envolvido em doenças complexas, sendo

importante, então, avaliar os efeitos de mais de uma variante simultaneamente (107). Dessa forma, análises de combinação de genótipos também se tornam uma perspectiva interessante, sendo necessários tamanhos amostrais maiores que o do presente estudo para a sua realização.

A caracterização molecular individual é um dos pilares da medicina de precisão, modelo de saúde promissor para o contexto do câncer infanto-juvenil por possibilitar a adoção de protocolos mais eficazes com menos efeitos colaterais (108), e com o qual estudos como esse visam contribuir. O modelo vem sendo utilizado em países da América do Norte e Europa para tratamento de agravos específicos e suscita diversas pesquisas em relação a custo-benefício – este sendo ainda incerto devido à falta de estudos de base –, incitando discussões sobre o que seria de fato “custo” quando se fala em cuidado em saúde (109). Recentemente, o Brasil anunciou a criação do Programa Nacional de Genômica e Saúde de Precisão, um banco com 100 mil genomas completamente sequenciados de brasileiros portadores de doenças crônicas e infectocontagiosas, visando o diagnóstico precoce de agravos que causam altos custos ao sistema público de saúde do país e o desenvolvimento de tratamentos individuais (110).

CONCLUSÃO

O presente trabalho sugere haver contribuição do genótipo AA de rs7943316 (*CAT*) para a mucosite oral severa e uma associação do genótipo GA de rs1800629 (*TNF- α*) com o não desenvolvimento de casos severos da doença. É necessário realizar estudos de análise de severidade com tamanhos amostrais maiores para confirmar o papel destes polimorfismos na progressão da mucosite oral. Para os polimorfismos rs4880 (*SOD*) e rs1800795 (*IL-6*), não foi detectada associação com ocorrência ou severidade da doença.

REFERÊNCIAS

1. 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. INCA: Rio de Janeiro, 2016. 412 p.
2. Filbin M, Monje M. Developmental origins and emerging therapeutic opportunities for childhood cancer. *Nat Med.* 2019 Mar;25(3):367-376.
3. Ward ZJ, Yeh JM, Bhakta N, Frazier AL, Atun R. Estimating the total incidence of global childhood cancer: a simulation-based analysis. *Lancet Oncol.* 2019 Apr;20(4):483-493.
4. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa Incidência de Câncer no Brasil - Triênio 2020-2022. INCA. Rio de Janeiro, 2019. 120 p.
5. Steliarova-Foucher E, Colombet M, Ries LAG, Moreno F, Dolya A, Bray F, et al. International incidence of childhood cancer, 2001-10: a population-based registry study. *Lancet Oncol.* 2017 Jun;18(6):719-731.
6. National Institute for Health and Care Excellence. Haematological cancers: improving outcomes. NICE guideline NG47. 2016. <https://www.nice.org.uk/guidance/ng47> (acesso em maio/2021)
7. American Cancer Society. Childhood leukemia subtypes. 2019b. <https://www.cancer.org/cancer/leukemia-in-children/detection-diagnosis-staging/how-classified.html> (acesso em maio/2021)
8. Küppers R, Dührsen U, Hansmann ML. Pathogenesis, diagnosis, and treatment of composite lymphomas. *Lancet Oncol.* 2014 Sep;15(10):e435-46.
9. Feliciano SV, Santos MO, Pombo-de-Oliveira, MS. Cancer incidence and mortality among children and adolescents: a narrative review. *Rev Bras Cancerol.* 2018; 64(3):385-391.
10. Brayley J, Stanton LK, Jenner L, Paul SP. Recognition and management of leukaemia in children. *Br J Nurs.* 2019 Aug 8;28(15):985-992.
11. Mauz-Körholz C, Ströter N, Baumann J, Botzen A, Körholz K, Körholz D. Pharmacotherapeutic Management of Pediatric Lymphoma. *Paediatr Drugs.* 2018 Feb;20(1):43-57.
12. Ministério da Saúde (BR). Portaria nº 956, de 26 de setembro de 2014. Dispõe sobre os protocolos e diretrizes terapêuticas para linfoma difuso de grandes células B. <http://conitec.gov.br/protocolos-e-diretrizes> (acesso em maio/2021).
13. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas em Oncologia. Brasília, 2014. 300 p.
14. Bhosle J, Hall G. Principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery* 2009 Apr;27(4):173-177.
15. Velten DB, Zandonade E, Monteiro de Barros Miotto MH. Prevalence of oral manifestations in children and adolescents with cancer submitted to chemotherapy. *BMC Oral Health.* 2017 Jan 20;17(1):49.
16. Lalla RV, Brennan MT, Gordon SM, Sonis ST, Rosenthal DI, Keefe DM. Oral Mucositis Due to High-Dose Chemotherapy and/or Head and Neck Radiation Therapy. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2019 Aug 1;2019(53):lgz011.

17. Ribeiro ILA, Limeira RRT, Dias de Castro R, Ferreti Bonan PR, Valença AMG. Oral Mucositis in Pediatric Patients in Treatment for Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Environ Res Public Health*. 2017 Nov 28;14(12):1468.
18. Lalla RV, Saunders DP, Peterson DE. Chemotherapy or radiation-induced oral mucositis. *Dent Clin North Am*. 2014 Apr;58(2):341-9.
19. Pulito C, Cristaudo A, Porta C, Zapperi S, Blandino G, Morrone, et al. Oral mucositis: the hidden side of cancer therapy. *J Exp Clin Cancer Res*. 2020 Oct 7;39(1):210.
20. Damascena LCL, de Lucena NNN, Ribeiro ILA, Pereira TL, Lima-Filho LMA, Valença AMG. Severe Oral Mucositis in Pediatric Cancer Patients: Survival Analysis and Predictive Factors. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Feb 14;17(4):1235.
21. Le Z, Niu X, Chen Y, Ou X, Zhao G, Liu Q, et al. Predictive single nucleotide polymorphism markers for acute oral mucositis in patients with nasopharyngeal carcinoma treated with radiotherapy. *Oncotarget*. 2017 Jun 13;8(38):63026-63037.
22. Normando AGC, Rocha CL, de Toledo IP, de Souza Figueiredo PT, Dos Reis PED, De Luca Canto G, et al. Biomarkers in the assessment of oral mucositis in head and neck cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Support Care Cancer*. 2017 Sep;25(9):2969-2988.
23. Ribeiro ILA, Silva SM, Limeira RRT, Bonan PRF, Valença AMG, Lima Neto EA, et al. Differences between the oral changes presented by patients with solid and hematologic tumors during the chemotherapeutic treatment. *J Appl Oral Sci*. 2019 Nov 25;28:e20190020.
24. Hurrell L, Burgoyne L, Logan R, Revesz T, Gue S. The Management of Pediatric Oncology Inpatients With Oral Mucositis. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2019 Nov;41(8):e510-e516.
25. Villa A, Sonis ST. Mucositis: pathobiology and management. *Curr Opin Oncol*. 2015 May;27(3):159-64.
26. Elting LS, Chang YC. Costs of Oral Complications of Cancer Therapies: Estimates and a Blueprint for Future Study. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2019 Aug 1;2019(53):lgz010.
27. Sonis ST. The pathobiology of mucositis. *Nat Rev Cancer*. 2004 Apr;4(4):277-84.
28. Chen C, Zhang Q, Yu W, Chang B, Le AD. Oral Mucositis: An Update on Innate Immunity and New Interventional Targets. *J Dent Res*. 2020 Sep;99(10):1122-1130.
29. Villa A, Sonis ST. Pharmacotherapy for the management of cancer regimen-related oral mucositis. *Expert Opin Pharmacother*. 2016 Sep;17(13):1801-7.
30. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*. 2015 Jun 5;97:55-74.
31. Di Meo S, Venditti P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Apr 23;2020:9829176.
32. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol*. 2015;4:180-3.
33. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact*. 2014 Dec 5;224:164-75.
34. Neha K, Haider MR, Pathak A, Yar MS. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *Eur J Med Chem*. 2019 Sep 15;178:687-704.

35. Miao L, St Clair DK. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radic Biol Med.* 2009 Aug 15;47(4):344-56.
36. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defense antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defense grid. *Alexan Jour Med.* 2018 Dec 54(4):287-293.
37. Mirończuk-Chodakowska I, Witkowska AM, Zujko ME. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv Med Sci.* 2018 Mar;63(1):68-78.
38. Jayedi A, Rashidy-Pour A, Parohan M, Zargar MS, Shab-Bidar S. Dietary Antioxidants, Circulating Antioxidant Concentrations, Total Antioxidant Capacity, and Risk of All-Cause Mortality: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Observational Studies. *Adv Nutr.* 2018 Nov 1;9(6):701-716.
39. Ortiz F, Acuña-Castroviejo D, Doerrier C, Dayoub JC, López LC, Venegas C, et al. Melatonin blunts the mitochondrial/NLRP3 connection and protects against radiation-induced oral mucositis. *J Pineal Res.* 2015 Jan;58(1):34-49.
40. Yoshino F, Yoshida A, Nakajima A, Wada-Takahashi S, Takahashi SS, Lee MC. Alteration of the redox state with reactive oxygen species for 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *PLoS One.* 2013 Dec 20;8(12):e82834.
41. Ahmed AA, Selim MA, El-Sayed NM. α -Lipoic acid ameliorates oral mucositis and oxidative stress induced by methotrexate in rats. Histological and immunohistochemical study. *Life Sci.* 2017 Feb 15;171:51-59.
42. Mukherjee S, Ghosh S, Choudhury S, Adhikary A, Manna K, Dey S, et al. Pomegranate reverses methotrexate-induced oxidative stress and apoptosis in hepatocytes by modulating Nrf2-NF- κ B pathways. *J Nutr Biochem.* 2013 Dec;24(12):2040-50.
43. Moghadam AR, Tutunchi S, Namvaran-Abbas-Abad A, Yazdi M, Bonyadi F, Mohajeri D, et al. Pre-administration of turmeric prevents methotrexate-induced liver toxicity and oxidative stress. *BMC Complement Altern Med.* 2015 Jul 22;15:246.
44. Ozcicek A, Cetin N, Keskin Cimen F, Tumkaya L, Malkoc I, Gulaboglu M, et al. The Impact of Resveratrol on Oxidative Stress Induced by Methotrexate in Rat Ileum Tissue: Evaluation of Biochemical and Histopathological Features and Analysis of Gene Expression. *Med Princ Pract.* 2016;25(2):181-6.
45. Yan XX, Li HL, Zhang YT, Wu SY, Lu HL, Yu XL, et al. A new recombinant MS-superoxide dismutase alleviates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *Acta Pharmacol Sin.* 2020 Mar;41(3):348-357.
46. Eubank PLC, Abreu LG, Violante IP, Volpato LER. Medicinal plants used for the treatment of mucositis induced by oncotherapy: a systematic review. *Support Care Cancer.* 2021 May 14.
47. Abdel Moneim AE, Guerra-Librero A, Florido J, Shen YQ, Fernández-Gil B, Acuña-Castroviejo D, et al. Oral Mucositis: Melatonin Gel an Effective New Treatment. *Int J Mol Sci.* 2017 May 7;18(5):1003.
48. Chaitanya NC, Muthukrishnan A, Babu DBG, Kumari CS, Lakshmi MA, Palat G, Alam KS. Role of Vitamin E and Vitamin A in Oral Mucositis Induced by Cancer Chemo/Radiotherapy- A Meta-analysis. *J Clin Diagn Res.* 2017 May;11(5):ZE06-ZE09.

49. Cuba LF, Salum FG, Guimarães FS, Cherubini K, Borghetti RL, de Figueiredo MA. Cannabidiol on 5-FU-induced oral mucositis in mice. *Oral Dis.* 2020 Oct;26(7):1483-1493.
50. 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 Jan;177(1):7-17.
51. Denadai AS, Aydos RD, Silva IS, Olmedo L, de Senna Cardoso BM, da Silva BA, et al. Acute effects of low-level laser therapy (660 nm) on oxidative stress levels in diabetic rats with skin wounds. *J Exp Ther Oncol.* 2017 Sep;11(2):85-89.
52. Martins AF, Morais MO, Sousa-Neto SS, Oton-Leite AF, Pereira CH, Valadares MC, et al. The Effect of Photobiomodulation on Nitrite and Inflammatory Activity in Radiotherapy-Induced Oral Mucositis: A Randomized Clinical Trial. *Lasers Surg Med.* 2020 Sep 30.
53. Rupel K, Zupin L, Colliva A, Kamada A, Poropat A, Ottaviani G, et al. Photobiomodulation at Multiple Wavelengths Differentially Modulates Oxidative Stress In Vitro and In Vivo. *Oxid Med Cell Longev.* 2018 Nov 11;2018:6510159.
54. Lugrin J, Rosenblatt-Velin N, Parapanov R, Liaudet L. The role of oxidative stress during inflammatory processes. *Biol Chem.* 2014 Feb;395(2):203-30.
55. Al-Dasooqi N, Sonis ST, Bowen JM, Bateman E, Blijlevens N, Gibson RJ, et al. Mucositis Study Group of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer/International Society of Oral Oncology (MASCC/ISOO). Emerging evidence on the pathobiology of mucositis. *Support Care Cancer.* 2013 Nov;21(11):3233-41.
56. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, et al. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α Inhibitors in Therapeutics. *Int J Mol Sci.* 2021 Mar 8;22(5):2719.
57. Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond).* 2012 Feb;122(4):143-59.
58. Morales-Rojas T, Viera N, Morón-Medina A, Alvarez CJ, Alvarez A. Proinflammatory cytokines during the initial phase of oral mucositis in patients with acute lymphoblastic leukaemia. *Int J Paediatr Dent.* 2012 May;22(3):191-6.
59. Cardoso LM, Pansani TN, Hebling J, de Souza Costa CA, Basso FG. Chemotherapy drugs and inflammatory cytokines enhance matrix metalloproteinases expression by oral mucosa cells. *Arch Oral Biol.* 2021 Jul;127:105159.
60. Ramírez-Amador V, Zambrano JG, Anaya-Saavedra G, Zentella-Dehesa A, Irigoyen-Camacho E, Meráz-Cruz N, et al. TNF as marker of oral candidiasis, HSV infection, and mucositis onset during chemotherapy in leukemia patients. *Oral Dis.* 2017 Oct;23(7):941-948.
61. Bossi P, Bergamini C, Miceli R, Cova A, Orlandi E, Resteghini C, et al. Salivary Cytokine Levels and Oral Mucositis in Head and Neck Cancer Patients Treated With Chemotherapy and Radiation Therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2016 Dec 1;96(5):959-966.
62. Bernsen EC, Hagleitner MM, Kouwenberg TW, Hanff LM. Pharmacogenomics as a Tool to Limit Acute and Long-Term Adverse Effects of Chemotherapeutics: An Update in Pediatric Oncology. *Front Pharmacol.* 2020 Aug 5;11:1184.
63. Miller MM, Donald DV, Hagemann TM. Prevention and treatment of oral mucositis in children with cancer. *J Pediatr Pharmacol Ther.* 2012 Oct;17(4):340-50.

64. Campbell JM, Bateman E, Stephenson MD, Bowen JM, Keefe DM, Peters MD. Methotrexate-induced toxicity pharmacogenetics: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2016 Jul;78(1):27-39.
65. Lu S, Zhu X, Li W, Chen H, Zhou D, Zhen Z, et al. Influence of Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and A1298C Polymorphism on High-Dose Methotrexate-Related Toxicities in Pediatric Non-Hodgkin Lymphoma Patients. *Front Oncol*. 2021 Feb 26;11:598226.
66. Radtke S, Zolk O, Renner B, Paulides M, Zimmermann M, Mörnicke A, Stanulla M, et al. Germline genetic variations in methotrexate candidate genes are associated with pharmacokinetics, toxicity, and outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2013 Jun 27;121(26):5145-53.
67. Oosterom N, Berrevoets M, den Hoed MAH, Zolk O, Hoerning S, Pluijm SMF, et al. The role of genetic polymorphisms in the thymidylate synthase (TYMS) gene in methotrexate-induced oral mucositis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenet Genomics*. 2018 Oct;28(10):223-229.
68. Viana JM. Associação entre polimorfismos em genes envolvidos no metabolismo do metotrexato e a ocorrência de mucosite oral em pacientes pediátricos com leucemia [dissertação]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba; 2019.
69. Liu Y, Yin Y, Sheng Q, Lu X, Wang F, Lin Z, et al. Association of ABCC2 -24C>T polymorphism with high-dose methotrexate plasma concentrations and toxicities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One*. 2014 Jan 3;9(1):e82681.
70. Gutierrez-Camino A, Oosterom N, den Hoed MA, Lopez-Lopez E, Martin-Guerrero I, Pluijm SM, et al. The miR-1206 microRNA variant is associated with methotrexate-induced oral mucositis in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenet Genomics*. 2017 Aug;27(8):303-306.
71. Mlak R, Powrózek T, Brzozowska A, Homa-Mlak I, Mazurek M, Gołębiowski P, et al. The relationship between TNF- α gene promoter polymorphism (- 1211 T > C), the plasma concentration of TNF- α , and risk of oral mucositis and shortening of overall survival in patients subjected to intensity-modulated radiation therapy due to head and neck cancer. *Support Care Cancer*. 2020 Feb;28(2):531-540.
72. Geng R, Chen Z, Zhao X, Qiu L, Liu X, Liu R et al. Oxidative stress-related genetic polymorphisms are associated with the prognosis of metastatic gastric cancer patients treated with epirubicin, oxaliplatin and 5-fluorouracil combination chemotherapy. *PLoS One*. 2014 Dec 29;9(12):e116027.
73. Zhang H, Zhao W, Gu D, Du M, Gong W, Tan Y, et al. Association of Antioxidative Enzymes Polymorphisms with Efficacy of Platin and Fluorouracil-Based Adjuvant Therapy in Gastric Cancer. *Cell Physiol Biochem*. 2018;48(6):2247-2257.
74. Alachkar H, Fulton N, Sanford B, Malnassy G, Mutonga M, Larson RA, et al. Expression and polymorphism (rs4880) of mitochondrial superoxide dismutase (SOD2) and asparaginase induced hepatotoxicity in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J*. 2017 Jun;17(3):274-279.
75. Genome Browser [internet]. Santa Cruz: California [acesso em maio/2021]. Disponível em: <https://genome.ucsc.edu/>.
76. Schneider A, Rosendahl J, Bugert P, Weiss C, Unterschütz H, Kylanpää-Bäck ML, et al. Genetic Variants in the Manganese Superoxide Dismutase 2 Gene and in the Catalase Gene are not Associated With Alcoholic Chronic Pancreatitis. *Alcohol Alcohol*. 2017 Sep 1;52(5):535-541.

77. Jerotic D, Matic M, Suvakov S, Vucicevic K, Damjanovic T, Savic-Radojevic A, et al. Association of Nrf2, SOD2 and GPX1 Polymorphisms with Biomarkers of Oxidative Distress and Survival in End-Stage Renal Disease Patients. *Toxins (Basel)*. 2019 Jul 23;11(7):431.
78. Faure C, Leveille P, Dupont C, Julia C, Chavatte-Palmer P; Alifert Group, et al. Are superoxide dismutase 2 and nitric oxide synthase polymorphisms associated with idiopathic infertility? *Antioxid Redox Signal*. 2014 Aug 1;21(4):565-9.
79. Farias ICC, Mendonça-Belmont TF, da Silva AS, do Ó KP, Ferreira F, Medeiros FS, et al. Association of the SOD2 Polymorphism (Val16Ala) and SOD Activity with Vaso-occlusive Crisis and Acute Splenic Sequestration in Children with Sick Cell Anemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2018 Feb 21;10(1):e2018012.
80. Wu J, Yu M, Huang L, Qian Y, Kong M, Kang Z, et al. Association of MnSOD gene polymorphism with susceptibility to Kawasaki disease in Chinese children. *Cardiol Young*. 2021 Feb;31(2):179-185.
81. Blein S, Berndt S, Joshi AD, Campa D, Ziegler RG, Riboli E, et al. NCI Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. Factors associated with oxidative stress and cancer risk in the Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. *Free Radic Res*. 2014 Mar;48(3):380-6.
82. Cronin-Fenton DP, Christensen M, Lash TL, Ahern TP, Pedersen L, Garne JP, et al. Manganese superoxide dismutase and breast cancer recurrence: a Danish clinical registry-based case-control study, and a meta-analysis. *PLoS One*. 2014 Jan 31;9(1):e87450.
83. Xu Z, Zhu H, Luk JM, Wu D, Gu D, Gong W, et al. Clinical significance of SOD2 and GSTP1 gene polymorphisms in Chinese patients with gastric cancer. *Cancer*. 2012 Nov 15;118(22):5489-96.
84. Gene Cards – The Human Gene Database [internet]. Rehovot: Israel. Disponível em: <https://www.genecards.org/>.
85. Hernández-Guerrero C, Hernández-Chávez P, Romo-Palafox I, Blanco-Melo G, Parra-Carriedo A, Pérez-Lizaur A. Genetic Polymorphisms in SOD (rs2070424, rs7880) and CAT (rs7943316, rs1001179) Enzymes Are Associated with Increased Body Fat Percentage and Visceral Fat in an Obese Population from Central Mexico. *Arch Med Res*. 2016 Jul;47(5):331-339.
86. Hernández-Guerrero C, Parra-Carriedo A, Ruiz-de-Santiago D, Galicia-Castillo O, Buenrostro-Jáuregui M, Díaz-Gutiérrez C. Genetic polymorphisms of antioxidant enzymes CAT and SOD affect the outcome of clinical, biochemical, and anthropometric variables in people with obesity under a dietary intervention. *Genes Nutr*. 2018 Jan 8;13:1.
87. Yahouédéhou SCMA, Neres JSDS, da Guarda CC, Carvalho SP, Santiago RP, Figueiredo CVB, et al. Sick Cell Anemia: Variants in the CYP2D6, CAT, and SLC14A1 Genes Are Associated With Improved Hydroxyurea Response. *Front Pharmacol*. 2020 Sep 9;11:553064.
88. Mansuri MS, Jadeja SD, Singh M, Laddha NC, Dwivedi M, Begum R. The catalase gene promoter and 5'-untranslated region variants lead to altered gene expression and enzyme activity in vitiligo. *Br J Dermatol*. 2017 Dec;177(6):1590-1600.
89. Lee CY, Chang CH, Teng NC, Chang HM, Huang WT, Huang YK. Associations between the phenotype and genotype of MnSOD and catalase in periodontal disease. *BMC Oral Health*. 2019 Aug 30;19(1):201.

90. El-Tahan RR, Ghoneim AM, El-Mashad N. TNF- α gene polymorphisms and expression. *Springerplus*. 2016 Sep 7;5(1):1508.
91. Zhang G, Zhang J, Kuang M, Lin P. The role of TNF alpha polymorphism and expression in susceptibility to nasal polyposis. *Immunol Invest*. 2018 May;47(4):360-371.
92. Zeng Z, Duan Z, Zhang T, Wang S, Li G, Gao J, et al. Association between tumor necrosis factor- α (TNF- α) promoter -308 G/A and response to TNF- α blockers in rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Mod Rheumatol*. 2013 May;23(3):489-95.
93. Song GG, Seo YH, Kim JH, Choi SJ, Ji JD, Lee YH. Association between TNF- α (-308 A/G, -238 A/G, -857 C/T) polymorphisms and responsiveness to TNF- α blockers in spondyloarthropathy, psoriasis and Crohn's disease: a meta-analysis. *Pharmacogenomics*. 2015;16(12):1427-37.
94. Lacruz-Guzmán D, Torres-Moreno D, Pedrero F, Romero-Cara P, García-Tercero I, Trujillo-Santos J, et al. Influence of polymorphisms and TNF and IL1 β serum concentration on the infliximab response in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013 Mar;69(3):431-8.
95. Zabaglia LM, Ferraz MA, Pereira WN, Orcini WA, de Labio RW, Neto AC, et al. Lack of association among TNF- α gene expression, -308 polymorphism (G > A) and virulence markers of *Helicobacter pylori*. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2015 Dec 30;21:54.
96. Al-Mohaya MA, Al-Harhi F, Arfin M, Al-Asmari A. TNF- α , TNF- β and IL-10 gene polymorphism and association with oral lichen planus risk in Saudi patients. *J Appl Oral Sci*. 2015 May-Jun;23(3):295-301.
97. Shi LX, Zhang L, Zhang DL, Zhou JP, Jiang XJ, Jin YL, et al. Association between TNF- α G-308A (rs1800629) polymorphism and susceptibility to chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *J Periodontal Res*. 2021 Apr;56(2):226-235.
98. Chen B, Li HZ. Association of IL-6 174G/C (rs1800795) and 572C/G (rs1800796) polymorphisms with risk of osteoporosis: a meta-analysis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2020 May 28;21(1):330.
99. Liu RT, Wang XX, Sun JR, Gao N, Yu WZ. Correlations of IL-6 and IL-10 gene polymorphisms with childhood acute lymphoblastic leukemia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020 Aug;24(15):8048-8056.
100. Wang X, Yang F, Xu G, Zhong S. The roles of IL-6, IL-8 and IL-10 gene polymorphisms in gastric cancer: A meta-analysis. *Cytokine*. 2018 Nov;111:230-236.
101. Jiménez-Sousa MA, Medrano LM, Liu P, Fernández-Rodríguez A, Almansa R, Gomez-Sanchez E, et al. IL-6 rs1800795 polymorphism is associated with septic shock-related death in patients who underwent major surgery: a preliminary retrospective study. *Ann Intensive Care*. 2017 Dec;7(1):22.
102. González-Castro TB, Hernández-Díaz Y, Pérez-Hernández N, Tovilla-Zárate CA, Juárez-Rojop IE, López-Narvaez ML, et al. Interleukin 6 (rs1800795) gene polymorphism is associated with cardiovascular diseases: a meta-analysis of 74 studies with 86,229 subjects. *EXCLI J*. 2019 Jun 7;18:331-355.
103. Todendi PF, Klinger EI, Ferreira MB, Reuter CP, Burgos MS, Possuelo LG, et al. Association of IL-6 and CRP gene polymorphisms with obesity and metabolic

- disorders in children and adolescents. *An Acad Bras Cienc.* 2015 Apr-Jun;87(2):915-24.
104. Pirim Gorgun E, Toker H, Korkmaz EM, Poyraz O. IL-6 and IL-10 gene polymorphisms in patients with aggressive periodontitis: effects on GCF, serum and clinic parameters. *Braz Oral Res.* 2017 Jan 16;31:e12.
 105. Vialykh EK, Solidolova MA, Bushueva OIu, Bulgakova IV, Polonikov AV. Catalase gene polymorphism is associated with increased risk of cerebral stroke in hypertensive patients. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2012;112:3-7
 106. Yassae F, Salimi S, Etemadi S, Yaghmaei M. Comparison of CAT-21A/T Gene Polymorphism in Women with Preeclampsia and Control Group. *Adv Biomed Res.* 2018 Oct 24;7:133.
 107. Curk T, Rot G, Zupan B. SNPsyn: detection and exploration of SNP-SNP interactions. *Nucleic Acids Res.* 2011 Jul;39(Web Server issue):W444-9.
 108. Vo KT, Parsons DW, Seibel NL. Precision Medicine in Pediatric Oncology. *Surg Oncol Clin N Am.* 2020 Jan;29(1):63-72.
 109. Kasztura M, Richard A, Bempong NE, Loncar D, Flahault A. Cost-effectiveness of precision medicine: a scoping review. *Int J Public Health.* 2019 Dec;64(9):1261-1271.
 110. Agência Brasil [internet]. Brasília: Brazil. [acesso em Junho/2021]. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2020-10/governo-lanca-programa-para-mapear-genoma-de-100-mil-brasileiros>.

ANEXO I

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS) – UFPB

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Polimorfismos genéticos e metilação de DNA estão associados à ocorrência de mucosite oral grave decorrente do tratamento quimioterápico em crianças e adolescentes com Leucemia Linfoblástica Aguda?

Pesquisador: Ana Maria Gondim Valença

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 64574217.3.0000.5188

Instituição Proponente: Universidade Federal da Paraíba

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.426.233

Apresentação do Projeto:

A presente emenda se refere basicamente apenas a alteração do título do projeto original

"Polimorfismos genéticos estão associados à ocorrência de mucosite oral grave

decorrente do tratamento quimioterápico em crianças e adolescentes com Leucemia

Linfoblástica Aguda? para "Polimorfismos genéticos e metilação de DNA estão associados à ocorrência de

mucosite oral grave decorrente do tratamento quimioterápico em

crianças e adolescentes com Leucemia Linfoblástica Aguda?". A mudança do título é justificada pelos

autores devido a inclusão de análise de metilação de DNA das amostras. Os autores relatam que a etapa de

análise de metilação de DNA já foi submetida e também aprovada, o título necessita ser alterado, pois no

modo como está contém somente o estudo de polimorfismo que consta no projeto original.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos da pesquisa continuam os mesmos

OBJETIVOS

Geral: Testar a hipótese de que polimorfismos genéticos estão associados à ocorrência de mucosite

oralgrave (MOG) em pacientes pediátricos (0 a 19 anos) com LLA submetidos à quimioterapia que inclua o

metotrexato.

Específicos:

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

Continuação do Parecer: 3.426.233

- Testar associações entre as variáveis - sexo, idade, cor de pele, grupo sanguíneo, número de plaquetas e leucócitos, creatinina; CPO-D/ceo-d; bactérias totais, estreptococos totais, estreptococos do grupo mutans e Candida spp; fluxo salivar e polimorfismos genéticos - e a mucosite oral grave após iniciada a quimioterapia;
- Determinar, de forma longitudinal, o grau de mucosite oral apresentado pelos pacientes durante o tratamento quimioterápico;
- Avaliar a relação entre o polimorfismo genético e o processo de ocorrência da MOG;
- Determinar se existe relação de dependência entre o polimorfismo para metabolização de metotrexato e a ocorrência de mucosite oral;
- Identificar, de forma longitudinal, o grau de colonização por bactérias totais, estreptococos totais, estreptococos do grupo mutans e Candida spp dos pacientes durante o tratamento quimioterápico;
- Identificar se há relação de dependência entre a colonização por bactérias totais, estreptococos totais, estreptococos do grupo mutans e Candida spp e ocorrência de mucosite oral durante o tratamento quimioterápico;
- Determinar, de forma longitudinal, o fluxo salivar dos pacientes durante o tratamento quimioterápico;
- Determinar se há relação de dependência entre o fluxo salivar e a ocorrência de mucosite oral durante a utilização de protocolos quimioterápicos que incluam o metotrexato;
- Identificar, ao longo do tratamento, quais dos 8 itens que compõem o OAG (Oral Assessment Guide) colaboram para o aumento do índice de mucosite oral nos pacientes.
- Construir modelos preditivos para a ocorrência de mucosite oral grave em pacientes pediátricos com LLA;
- Elaborar protocolos para a atenção em saúde bucal de crianças e adolescentes com LLA pautados nos fatores de risco para o desenvolvimento de mucosite oral.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos também continuam os mesmos:

Os riscos envolvidos na execução da proposta são relativos à:

- desconforto pela criança/adolescente permanecer de boca aberta por cerca de 5 minutos;
- desconforto no momento da coleta de sangue. Contudo, ressaltamos que esta coleta é rotineiramente realizada para outros exames e, a amostra de sangue que utilizaremos para a pesquisa será proveniente de exames solicitados pela equipe médica para os pacientes.

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comiteeetica@ccs.ufpb.br

Continuação do Parecer: 3.426.233

Benefícios:

O desenvolvimento do presente projeto proporcionará a produção de conhecimentos inéditos sobre a relação entre a terapia antineoplásica administrada a pacientes pediátricos oncológicos

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa em essência é a mesma, os autores apenas solicitam a adequação do título para evidenciar análise que já estava contemplada no projeto original.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

nada a declarar

Recomendações:

nada a declarar

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A emenda apresentada não apresenta pendências ou impedimentos éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1352961_E2.pdf	09/05/2019 09:08:25		Aceito
Outros	Justificativa_Metilacao.pdf	09/05/2019 09:05:56	Ana Maria Gondim Valença	Aceito
Outros	AdendoPesquisaPolimorfismo.pdf	20/02/2019 10:41:46	Ana Maria Gondim Valença	Aceito
Outros	TCLEPolimorfismoMetilacao.pdf	20/02/2019 10:40:17	Ana Maria Gondim Valença	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROPOSTAEditalUniversalCEP.pdf	01/02/2017 14:27:12	Ana Maria Gondim Valença	Aceito
Outros	FolhadeRosto02ProjetoPolimorfismos.pdf	31/01/2017 17:28:40	Ana Maria Gondim Valença	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto01ProjetoPolimorfismos.pdf	31/01/2017 17:27:45	Ana Maria Gondim Valença	Aceito
Outros	AnuenciaLaureanoProjetoPolimorfismosGeneticos.pdf	31/01/2017 08:48:08	Ana Maria Gondim Valença	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLEProjetoPolimorfismosGeneticos.pdf	30/01/2017 14:51:38	Ana Maria Gondim Valença	Aceito

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

APÊNDICE I

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

PESQUISA:

Associação entre polimorfismos genéticos e ocorrência de mucosite oral

João Pessoa, ___/___ de 20__

Prezado(a) Senhor(a),

Estamos realizando uma pesquisa para verificar se fatores genéticos podem influenciar na ocorrência de inflamação da mucosa da boca (mucosite) em crianças e adolescentes atendidos no Hospital Napoleão Laureano que fazem uso de quimioterapia para tratamento da Leucemia.

Faremos um exame da boca das crianças e adolescentes no consultório dentário do setor de Pediatria do hospital ou no leito, caso o paciente esteja internado. No exame iremos verificar a situação dos dentes, da gengiva, da bochecha, da língua, do palato e dos lábios. Este exame não representa riscos para quem será examinado, havendo apenas a necessidade de abrir a boca por cerca de 5 minutos.

Também coletaremos a saliva das crianças e adolescentes e na saliva veremos a quantidade de alguns microrganismos. Nesta saliva será verificado, ainda, se existem alterações em alguns genes, pois algumas destas alterações poderiam fazer com que pessoas que fazem quimioterapia venham a ter maior chance de apresentar inflamação na boca.

A saliva será utilizada apenas para fazer os testes que já lhe explicamos e, após os testes serem feitos, o material será descartado.

Obteremos informações do prontuário da criança/adolescente sobre a: idade dela, histórico médico e o tratamento que está sendo realizado.

Os dados individuais não serão divulgados em nenhuma hipótese, mas os resultados da pesquisa ajudarão a compreender se alterações genéticas influenciam no aparecimento da inflamação de gengiva e, com isto, identificar quem são as crianças e adolescentes com maior possibilidade de ter inflamação na boca. Por isso, sua colaboração, autorizando no quadro abaixo a realização do exame da pessoa pela qual é responsável, é muito importante.

Esclarecemos que a sua participação nesta pesquisa é decorrente de sua livre decisão após receber todas as informações que julgar necessárias.

Nem você nem a criança pela qual é responsável serão prejudicadas de qualquer forma caso sua vontade seja de não colaborar.

A qualquer momento você pode desistir de continuar colaborando na nossa pesquisa e sua decisão não trará quaisquer prejuízos para o paciente pelo qual você é responsável.

Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos, conforme Resolução no. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Se quiser mais informações sobre o nosso trabalho, por favor ligue para Profa. Ana Maria Gondim Valença – Telefones (83) 32167796 / (83) 999864397.

Profa. Ana Maria Gondim Valença

Coordenadora da Pesquisa

AUTORIZAÇÃO

Após ter sido informado sobre as características da pesquisa Associação entre polimorfismos genéticos e ocorrência de mucosite oral

AUTORIZO a realização do exame em:

Em _____ de _____ de 20 ____

Nome do responsável

Assinatura do responsável

Testemunha _____

Telefone do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde – (83) 32167791
Centro de Ciências da Saúde - 1º andar
Campus I - Cidade Universitária CEP: 58.051-900 - João Pessoa-PB
eticaccsufpb@hotmail.com

APÊNDICE II

Termo de Assentimento

Associação entre polimorfismos genéticos e ocorrência de mucosite oral

João Pessoa, ___/___ de 201__

Você está sendo convidado/a para participar da pesquisa: Associação entre polimorfismos genéticos e ocorrência de mucosite oral.

Seus pais permitiram que você participasse.

Com esta pesquisa queremos que colabore conosco permitindo que examinemos sua boca (lábios, dentes, gengiva, língua, palato e bochechas). Também pedimos que você permita que seja feita a coleta de sua saliva.

As crianças que irão participar desta pesquisa têm de 0 a 19 anos de idade. Caso não queira participar da pesquisa, é um direito seu e não terá nenhum problema em recusar ou desistir.

A qualquer momento você pode nos procurar pelo telefone (83) 999864397 ou pelo e-mail anamvalenca@gmail.com da pesquisadora Ana Maria Gondim Valença. Ao persistirem as dúvidas sobre os seus direitos como participante desta pesquisa, você também poderá fazer contato com Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba pelo telefone (83) 3216-7791.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der.

Os resultados da pesquisa vão ser divulgados, mas sem identificar as crianças que participaram.

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima deste texto.

CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Eu _____ aceito participar da pesquisa associação entre polimorfismos genéticos e ocorrência de mucosite oral. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar com raiva se eu desistir. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

João Pessoa, ___ de _____ de _____.

Assinatura do menor ou impressão dactiloscópica

Assinatura do(a) pesquisador(a)