

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:
CLÍNICA MÉDICA

EFEITO PROTETOR DO α -TOCOFEROL (VITAMINA E)
NA ESTOMATITE RADIOINDUZIDA:
UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO E DUPLO-CEGO

Autor: Paulo Renato Figueiredo Ferreira

Orientador: Prof. James Freitas Fleck

TESE DE DOUTORADO

PORTO ALEGRE

2000

F383e Ferreira, Paulo Renato Figueiredo

Efeito protetor do α -tocoferol (vitamina e) na estomatite radioinduzida :
um ensaio clínico randomizado e duplo-cego / Paulo Renato Figueiredo
Ferreira ; orientador James Freitas Fleck. – Porto Alegre, 2000.
127 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Faculdade de Medicina. Curso de Pós-Graduação em Medicina : Clínica
Médica

1. Estomatite : radioterapia. 2. Vitamina E . 3. Neoplasias de cabeça e
pescoço, I. Fleck, James Freitas. II. Título.

NLM: WI 200

Catálogo Helen Flores, CRB/10-1042

**“Descobrir consiste em ver o que ninguém mais viu
e pensar o que ninguém mais pensou.”**

Albert Szent-Györgi (1893-1986).
Prêmio Nobel de Medicina de 1937 pela “descoberta da
vitamina C e de alguns processos de combustão biológica”.

**Para Lorenzo,
que está por chegar.**

Possa sua geração oferecer soluções para velhos enigmas.

AGRADECIMENTOS

Meu reconhecimento às pessoas e instituições, abaixo relacionadas em ordem alfabética, que contribuíram expressivamente para a realização deste estudo,

Dra. Ada S. Diehl	Serviço de Citopatologia do HCPA
Técnica Ana Luiza Araújo	Serviço de Radioterapia do HSL-PUCRS
Física Ana Luiza Lopes	Serviço de Radioterapia do HSL-PUCRS
Dr. Antônio Barletta	Serviço de Radioterapia do HSL-PUCRS
Dr. Aroldo Braga Filho	Serviço de Radioterapia do HSL-PUCRS
Dra. Daniela Vargas Barletta	Serviço de Radioterapia do HSL-PUCRS
Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos	Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA
Dr. João Carlos Prolla	Serviço de Citopatologia do HCPA
Dra. Lígia T. Aripe Ilha	Serviço de Radioterapia do HSL-PUCRS
Física Magali Borges	Serviço de Radioterapia do HSL-PUCRS
Dra. Marisa Magnus Smith	Coordenação de Língua Portuguesa, Setor de Vestibulares, PUCRS
Dr. Mário Bernardes Wagner	Serviço de Epidemiologia e Bioestatística do HCPA
Citotécnica Neiva Copetti	Serviço de Citopatologia do HCPA
Roche Ind. Químicas e Farmacêuticas	Fornecedora de parte da medicação utilizada no estudo
Bióloga Izeti Pacheco Silveira	Serviço de Citopatologia do HCPA

e especialmente,

ao Prof. James Freitas Fleck, por suas grandes idéias,

e à Márcia e Francine, estimuladoras carinhosas e compreensivas.

SUMÁRIO

	pág.
I INTRODUÇÃO	1
II REVISÃO DA LITERATURA	4
1. Interação da radiação ionizante com a matéria biológica	4
2. Prevenção e tratamento da estomatite radioinduzida	11
3. Utilização de micronúcleos como marcadores do dano celular	21
4. Farmacologia da vitamina E	24
5. Sobrevida com radioterapia exclusiva ou pós-operatória em tumores da cavidade oral e faringe.	27
6. Justificativas	28
III OBJETIVOS	30
IV HIPÓTESE	31
V PACIENTES E MÉTODOS	32
VI RESULTADOS	48
VII DISCUSSÃO	60
VIII CONCLUSÕES	65
XI ANEXO	66
X REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
APÊNDICES	83
ARTIGO CIENTÍFICO – VERSÃO EM LÍNGUA INGLESA	88
ARTIGO CIENTÍFICO – VERSÃO EM LÍNGUA PORTUGUESA	107

LISTA DE ABREVIATURAS

DNA	Ácido desoxirribonucléico (“desoxiribonucleic acid”)
DP	Desvio Padrão
ERI	Estomatite radioinduzida
Gy	Gray (1 Joule/kg ⁻¹)
IC95%	Intervalo de confiança de 95%
kg	Quilograma
NS	Não significativo
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
RR	Risco relativo
RTOG/EORTC	Radiation Therapy Oncology Group/European Organization for Research and Treatment of Cancer
SOD	Enzima dismutase-superóxido
UI	Unidades Internacionais

RESUMO

FERREIRA, P.R.F. **Efeito protetor do α -tocoferol (vitamina E) na estomatite radioinduzida: um ensaio clínico randomizado e duplo-cego.** Porto Alegre, 2000. Tese (Doutorado) – Curso de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Os radicais livres do oxigênio gerados na água intracelular têm sido implicados no efeito biológico das radiações ionizantes. Por determinarem modificações estruturais no ácido desoxirribonucléico e também por removerem átomos de ácidos graxos da membrana plasmática numa reação chamada de peroxidação lipídica, produzem alterações na permeabilidade da membrana e, em última análise, morte celular. Presentemente, não há dados convincentes suportando a eficácia, segurança e emprego de drogas potencialmente protetoras como parte do tratamento antineoplásico. Há um pequeno número de protocolos atualizados e disponíveis referentes a tratamentos tópicos orais. Devido à sua capacidade de inativar os radicais livres, a vitamina E em doses supra-fisiológicas tem sido proposta como um potencial agente químico e radioprotetor. Até onde sabemos, não há outros estudos similares ao nosso testando a vitamina E como droga única, em altas doses, em pacientes com tumores da cavidade oral, faringe ou metástases cervicais de primário desconhecido tratados com radioterapia exclusiva ou pós-operatória. Os micronúcleos têm sido considerados um marcador específico na monitorização do dano genético induzido pela radiação ionizante. Nosso estudo foi desenhado para testar a hipótese que a vitamina E, como droga única, é capaz de proteger a mucosa oral de pacientes com câncer de cabeça e pescoço tratados com radioterapia exclusiva ou pós-operatória, e para investigar se a contagem de micronúcleos é um marcador deste efeito. Pacientes com câncer de cavidade oral, faringe e metástases cervicais de tumor primário ignorado, operados ou não, foram admitidos. Com uma unidade de Telecobalto 60 foram utilizadas doses que variaram de 50-70 Gy/5-7 semanas (fracionamento convencional), dependendo se pré-operatória ou exclusivamente. Uma solução oleosa de vitamina E (400 mg) ou de placebo (500 mg) foi usada no enxágüe da cavidade oral duas vezes ao dia. Semanalmente, a cavidade oral foi inspecionada e células da mucosa oral foram coletadas para contagem de micronúcleos. Foi calculada uma densidade de incidências de estomatite grave (grau ≥ 2). Todos os valores de p foram bi-caudais. Níveis de significância de $\alpha=5\%$, $\beta=20\%$ e poder de 80% foram utilizados. Estomatite grave foi mais freqüente nos pacientes do grupo placebo (54 eventos/161 pacientes-semana = 33,5%) do que nos do grupo da vitamina E (36 eventos/167 pacientes-semana = 21,6%) ($p=0,038$). A vitamina E foi capaz de reduzir em 36% o risco de estomatite grave. Nosso estudo não teve poder estatístico suficiente para avaliar, conclusivamente, as diferenças na duração da estomatite grave, perda ponderal e freqüência de células micronucleadas. Concluímos que a vitamina E é potencialmente eficaz e segura na redução da intensidade da estomatite radioinduzida grave em pacientes com tumores selecionados de cabeça e pescoço, embora novos estudos sejam necessários para confirmar definitivamente o efeito protetor deste agente.

SUMMARY

FERREIRA, P.R.F. **Protective effect of α -tocopherol (vitamin E) in radiation induced mucositis: a double-blind randomized trial.** Porto Alegre, 2000. Tese (Doutorado) – Curso de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Oxygen free radicals generated into the cellular water have been implicated in the biological effect of ionizing radiation. They induce deoxyribonucleic acid structural modifications and also remove hydrogen atoms from the cell membrane fatty acids, a reaction called lipidic peroxidation, which results in alterations in the membrane permeability and, ultimately, in cell death. Thus far, there is no convincingly data supporting the efficacy, safety and utility of potentially radioprotectant drugs as part of the antineoplastic treatment. There is a small number of available and updated protocols concerning oral topic treatments. Because of its free radical inactivation capabilities, vitamin E in supraphysiological doses has been proposed as a potential chemo and radioprotectant agent. As far as we know, there is no other similar studies like ours testing vitamin E as a single drug in high doses in patients with tumors of the pharynx, oral cavity or with cervical lymph node metastasis due to unknown primary treated by radiation therapy alone or postoperative. Micronuclei have been considered a specific marker in monitoring the genetic damage induced by ionizing radiation. Our study was designed to test the hypothesis that vitamin E, as a single drug, is able to provide oral mucosal protection in patients with cancer of the head and neck treated with radiation therapy alone or post-operative, as well as to investigate if micronuclei assay is a predictive marker of this effect. Patients with cancer of the oral cavity, pharynx and cervical metastasis from unknown primary, operated or not, were admitted. Radiation doses ranged from 50-70 Gy/5-7 weeks (conventional fractionation) and were given through a Telecobalt 60 unit, depending on if postoperative or alone. An oil solution of either vitamin E (400 mg) or placebo (500 mg) was rinsed twice a day over the oral cavity. Once a week the oral cavity was clinically inspected and oral mucosal cells collected for micronuclei assay. It was calculated a density of incidences of severe mucositis (grade \geq 2). All the p values were two-tailed. Significance levels of $\alpha=5\%$, $\beta=20\%$ and power of 80% were utilized. Severe mucositis was more frequent in patients of the placebo group (54 events/161 patients-week = 33.5%) than in those of the vitamin E group (36 events/167 patients-week = 21.6%) ($p=0.038$). Vitamin E was able to reduce in 36% the risk of severe mucositis. Our study had no sufficient statistical power to conclusively evaluate differences in duration of severe mucositis, weight loss and frequency of micronucleated cells. We conclude that vitamin E is potentially efficacious and safe in reducing the intensity of severe radioinduced mucositis in patients with selected tumors of the head and neck, although new studies are necessary to definitively measure the protective effect of this agent.

I INTRODUÇÃO

Cerca de 40% dos pacientes com tumores de cabeça e pescoço tratados com quimioterapia, e de 100% dos pacientes tratados com radioterapia, desenvolvem dano na mucosa do trato aerodigestivo superior [Sonis, 1993]. Por atuar como uma barreira química que limita a penetração de bactérias no epitélio, a superfície mucosa, ao ser danificada, torna-se uma porta de entrada para microorganismos e aumenta o risco de infecções secundárias [Berger *et al.*, 1997]. Septicemias podem originar-se a partir da boca numa frequência de 25-50%, principalmente em pacientes granulocitopênicos [Gabilove *et al.*, 1988], assim como quase todos os casos de candidíase sistêmica [Epstein *et al.*, 1992]. Além de causar dor, o dano à mucosa da boca pode obrigar a uma redução na intensidade de dose ou a interrupções no tratamento, comprometendo a chance de controle da neoplasia [Amdur *et al.*, 1989]. A qualidade de vida também pode ser prejudicada por dificuldades na deglutição e por perda ponderal, que pode ser superior a 5 kg durante a irradiação [Symonds *et al.*, 1996].

As células das membranas mucosas do trato aerodigestivo superior possuem grande capacidade proliferativa e são, por essa razão, muito sensíveis ao efeito da terapia. Este tipo de dano induzido pelo tratamento, chamado na língua inglesa de *mucositis*, é resultante de mudanças atróficas no epitélio mucoso, que sofre uma diminuição da renovação celular e se torna incapaz de restaurar adequadamente as células perdidas por morte ou exfoliação [Symonds, 1998]. Quando causada pela radioterapia e localizada na cavidade oral, essa lesão pode ser designada em português como estomatite “radioinduzida” (ERI). A ERI é proporcional à energia do feixe de irradiação (penetrabilidade), à área de mucosa irradiada, à dose diária e à dose acumulada. Num paciente irradiado, a ERI pode também ser influenciada por outros fatores secundários, dentre eles principalmente a desnutrição, que interfere ainda mais na regeneração da mucosa por diminuir a migração celular [Sonis, 1993]. Há também uma complexa correlação entre a microflora oral, patologias dentárias, cáries e ERI. As cáries

e a xerostomia (que costuma ser induzida pela irradiação) aumentam expressivamente a colonização bacteriana da placa dentária e estão associadas à intensidade do dano à mucosa oral [Berger *et al.*, 1997]. As mucosas do trato aerodigestivo superior modificam-se precocemente durante um curso de radioterapia externa de megavoltagem. Num tratamento típico realizado com doses diárias de 2 Gy (1 Gy [Gray]= 1 Joule/kg⁻¹) de segundas a sextas-feiras durante 5 a 7 semanas, ocorre uma hiperemia da mucosa ao redor da 5ª sessão (10 Gy). Aproximadamente na 10ª sessão (20 Gy) a mucosa desenvolve pequenas áreas pseudomembranosas, brancas ou amareladas, correspondendo a edema e acúmulo de células epiteliais mortas, fibrina e leucócitos polimorfonucleados. Nesta fase, que coincide com a segunda semana da radioterapia, costuma haver desconforto ou dor para deglutir. Em muitos pacientes, ao redor da 3ª semana, as áreas de edema evoluem para lesões serossanguinolentas múltiplas, confluentes e dolorosas, que podem limitar seriamente a nutrição [Parsons, 1984]. Histologicamente, pode ser observado um edema do epitélio e alterações vasculares (espessamento da túnica íntima, redução do calibre e destruição das fibras elásticas e musculares das paredes dos vasos). Em situações mais graves, a perda das células da membrana basal do epitélio pode causar uma ulceração da mucosa e expor o estroma do tecido conectivo subjacente e a sua inervação, o que, com o alargamento da lesão, contribui para a intensificação da dor [Holmes, 1991].

As áreas mais propensas a desenvolver ERI são a região jugal, lábio, assoalho da boca, superfície ventral da língua e palato mole. O pico de intensidade dos sintomas ocorre entre a 3ª e 5ª semana. Frequentemente, apesar do prosseguimento da radioterapia, há uma remissão parcial dos sintomas devido à repopulação reacional das células basais da mucosa [Symonds *et al.*, 1996]. Uma melhora significativa da ERI ocorre ao redor de duas a três semanas após o término da radioterapia. Ao final do primeiro mês, 90 a 95% da ERI estará completamente cicatrizada, e a odinofagia terá desaparecido ou será mínima [Parsons, 1984]. Além do dano às membranas mucosas, a radioterapia da cavidade oral e faringe também é responsável pelo surgimento de xerostomia (devido à

irradiação das glândulas salivares), alterações no paladar, emagrecimento, reações cutâneas, cáries dentárias, etc. [Emami, 1997].

Esta pesquisa científica lida, fundamentalmente, com a tentativa de prevenção, pela vitamina E, dos efeitos indesejáveis da radioterapia na mucosa oral de pacientes portadores de câncer da cabeça e pescoço. Com o intuito de familiarizar o leitor com os eventos envolvidos neste processo, revisaremos a seguir a absorção da radiação ionizante pelos tecidos vivos, a formação de radicais livres, os tratamentos disponíveis para a ERI, a utilização de micronúcleos como marcadores do dano nuclear, a farmacologia da vitamina E e os resultados de sobrevida com a radioterapia exclusiva ou pós-operatória.

II REVISÃO DA LITERATURA

1 INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO IONIZANTE COM A MATÉRIA BIOLÓGICA

RESPOSTA CELULAR

As radiações ionizantes podem produzir, basicamente, dois tipos de efeitos nos tecidos biológicos [Michaels *et al.*, 1978; Roots *et al.*, 1975]:

a) Efeito Direto: é produzido por prótons, nêutrons, partículas alfa, etc., que possuem alta transferência linear de energia; isto é, são capazes de produzir ionizações e danos no meio celular através de interações diretas com átomos e biomoléculas, como o DNA, proteínas e lipídios.

b) Efeito Indireto: é produzido pela interação da radiação com as moléculas da água intracelular, formando compostos chamados de radicais livres. Neste tipo de evento serão os radicais livres os responsáveis pela ionização dos átomos e biomoléculas dos constituintes celulares. O efeito indireto é o mais verificado na irradiação com fótons (feixes de energia sem carga elétrica, tais como os raios X e gama), onde constitui cerca de 70% dos eventos biológicos. A irradiação com feixe de fótons é a modalidade de radioterapia mais empregada no tratamento dos tumores da cabeça e pescoço.

É, em geral, aceita a idéia de que o dano no DNA (*deoxyribonucleic acid*) seja o evento principal pelo qual a radiação ionizante mata as células [Elkind, 1967]. Na molécula do DNA, a radiação ionizante induz o surgimento de alterações estruturais incompatíveis com a sobrevivência celular (quebra de uma ou de ambas as hélices, modificações de bases nitrogenadas, rompimento das pontes de hidrogênio, formação de micronúcleos, translocações de fragmentos de DNA, aberrações cromossômicas, etc.), caso não sejam reparadas [Brock, 1985; Gomes *et al.*, 1986]. A quebra dupla do DNA é o dano mais letal [Segreto *et al.*, 1997]. Considera-se que as células apresentem, aproximadamente, a mesma quantidade de quebras duplas por Gray, mas o que diferencia a sensibilidade à radiação é a capacidade de reparo deste tipo de dano [Lichter *et al.*, 1995].

Ao ser atingida pela radiação, uma célula com capacidade proliferativa poderá manifestar o efeito biológico de diversas maneiras [Hellman, 1993]:

- morrer ao entrar em mitose;
- gerar variantes não usuais como resultado de uma tentativa aberrante de divisão;
- permanecer fisiologicamente funcional, mas incapaz de se dividir por um longo período de tempo;
- dividir-se e produzir uma ou mais gerações antes que uma parcela ou toda a descendência se torne estéril. A parcela fértil poderá continuar em divisão indefinidamente;
- não sofrer alterações significativas.

As alterações radioinduzidas na membrana celular também se constituem em lesões citotóxicas relevantes, conforme abordamos no próximo tópico.

FORMAÇÃO DE RADICAIS LIVRES, DANO E PROTEÇÃO À MEMBRANA CELULAR

Os fótons das radiações ionizantes depositam sua energia nos tecidos biológicos através da ejeção de elétrons dos constituintes celulares – dentre os quais a água é o predominante – propiciando a formação de compostos químicos altamente reativos com as moléculas da membrana plasmática e do DNA, chamados de radicais livres. A descrição de Altman, KI [1973] sobre a formação dessas substâncias é clássica. Segundo esse autor, os radicais livres caracterizam-se pela presença de um elétron livre em algum ponto da sua estrutura molecular, o que os torna relativamente instáveis e altamente capazes de se combinar com outras substâncias. A tabela 1 apresenta as reações químicas envolvidas nesse processo, tendo como fenômeno inicial a ionização das moléculas da água celular, que são clivadas pelos fótons incidentes, liberando um elétron (equação 1). Este fenômeno é chamado de radiólise da água. As novas substâncias criadas experimentam reações subseqüentes. Uma molécula ionizada de H_2O^+ reage com outra de H_2O (disponível normalmente no meio), assim como os elétrons ejetados

anteriormente também reagem com outras moléculas de água, conforme as equações 2 e 3.

TABELA 1- PRINCIPAIS REAÇÕES QUÍMICAS ENVOLVIDAS NA FORMAÇÃO DE RADICAIS LIVRES A PARTIR DA RADIÓLISE DA ÁGUA (BASEADO EM ALTMAN, KI [1973] – PORTO ALEGRE, 2000

EQUAÇÃO	REAÇÃO QUÍMICA					
1	fóton	+	H ₂ O	→	H ₂ O ⁺	+ e ⁻
2	H ₂ O ⁺	+	H ₂ O	→	H ₃ O ⁺	+ OH*
3	e ⁻	+	H ₂ O	→	e ⁻ _{aq}	
4	e ⁻ _{aq}	+	H ₂ O	→	H*	+ OH _{aq} *
5	H ₂ O ⁺	+	e ⁻	→	H ₂ O ⁺	→ H* + OH*
6			OH*	→	O ⁻	+ H ⁺
7	H*	+	O ₂	→	HO ₂ *	
8	HO ₂ *	+	HO ₂ *	→	H ₂ O ₂	+ O ₂

* Designa um radical livre.

+ Designa um estado ativado.

Um dos produtos da equação 2 é o radical oxidante OH*, enquanto que o produto da equação 3 é o elétron hidratado (e⁻_{aq}). O mecanismo de formação e a natureza do elétron hidratado requerem algum comentário. Em geral, pode-se distinguir dois tipos de elétrons ejetados, dependendo da sua energia; isto é, se sua energia cinética se encontra acima ou abaixo do nível de excitação eletrônica mais baixa do meio. No primeiro caso, a perda de energia por colisões inelásticas toma lugar até que a energia do elétron fique mais baixa do que qualquer estado eletrônico excitado nas moléculas do meio. O elétron, então, não pode perder energia para os sistemas eletrônicos das moléculas com as quais colide;

isto demandaria aproximadamente 10^{-11} segundos neste estado antes que houvesse equilíbrio térmico no meio. Moléculas de água na temperatura ambiente têm um tempo de relaxamento de 10^{-11} segundos, ao fim do qual uma região de polarização positiva se forma ao redor do elétron “termalizado”. A região de moléculas polarizadas de água mais o elétron capturado formam um complexo conhecido com elétron hidratado. A combinação do elétron hidratado com uma molécula de água disponível no meio produzirá, por dissociação, um íon de H e um radical “OH hidratado” (equação 4). O elétron ejetado durante a ionização da água (equação 1) é recapturado por uma molécula de água ionizada (equação 5), resultando na formação de uma molécula de água excitada, a qual pode se dissociar em H^* e OH^* . Essa reação constitui uma das maiores fontes do radical H^* .

O principal radical livre oxidativo resultante da radiólise da água é o OH^* . Esta substância altamente reativa origina-se tanto conforme a equação 2 quanto a equação 5. Num meio alcalino, o radical OH^* dissocia-se conforme a equação 6. As potencialidades químicas do OH^* são melhor refletidas pelas reações nas quais este radical dissociado toma parte, conforme as equações 7 e 8. Um segundo radical oxidativo é o hidroxiperoxil ou perhidroxil (HO_2^*), que é um produto da interação do oxigênio molecular (normalmente presente no meio celular) com o radical H^* , conforme a equação 7. Esse radical não existe acima de um pH 5,0, embora seus produtos de dissociação sejam estáveis acima deste valor. O radical hidroxiperoxil é capaz de reagir com outra molécula semelhante formando um novo composto, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Uma vez presente no meio, o oxigênio molecular dificulta a recombinação e a estabilização do radical hidroxiperoxil. Este fato determina um aumento na concentração do HO_2^* e seu maior poder lesivo no meio [Fridovich, 1978]. A meia-vida dos radicais livres é curta: cerca de 1 nano segundo para o OH^* e cerca de 70 nano segundos para o H^* [Michaels *et al.*, 1978]. Além das radiações ionizantes, os radicais livres também podem ser gerados por fenômenos biológicos, como a fagocitose, e por certas drogas, como os antineoplásicos [Osaki, 1980]. Gouyette *et al.* [1987] postularam que radicais livres formados a partir do metabolismo das

drogas antineoplásicas e excretados pela saliva podem exercer uma ação tóxica direta sobre a mucosa oral.

Além do DNA, outro importante alvo dos radicais livres é a membrana celular. Os radicais livres provocam um desarranjo estrutural basicamente na camada lipídica da membrana, modificando suas propriedades de transporte [Segreto *et al.*, 1997]. Esse tipo de dano induzido pelos radicais livres se chama “peroxidação lipídica das membranas”, na qual removem átomos de hidrogênio dos ácidos graxos e determinam a sua inativação funcional. Em decorrência, as subseqüentes alterações de permeabilidade, degradação do colágeno, despolimerização do ácido hialurônico e inativação de enzimas essenciais e do transporte de proteínas via oxidação sulfidrílica conduzem à morte celular [Empey *et al.*, 1992]. Alguns sistemas antioxidantes naturais constituem importantes agentes de defesa da membrana celular contra os fenômenos oxidativos causados pelos radicais livres, dentre eles as enzimas superóxido dismutase, catalase, glicose-6-fosfato desidrogenase, glutatião sintetase, glutatião redutase e glutatião peroxidase [Witting, 1980], e certos nutrientes, como aminoácidos contendo compostos sulfidrílicos, selênio, zinco, cobre, riboflavina, ubiquinona e vitaminas, como o ácido ascórbico (vitamina C) e o tocoferol (vitamina E) [Ward *et al.*, 1995; van Acker *et al.*, 1993; Delaney *et al.* 1992, Kagan *et al.* 1990, Tampo *et al.* 1990 e Regan *et al.* 1990]. Segundo alguns autores, a vitamina E (figura 1) é o principal agente antioxidante presente no sangue humano, muito provavelmente devido ao fato de ser lipossolúvel e mover-se entre as camadas da membrana, executando sua principal função biológica, que é inibir a peroxidação lipídica [Flam, 1997; Van Acker *et al.*, 1993; Burton *et al.* 1980]. Ao ligar-se à camada lipídica das biomembranas, a extremidade fenólica da vitamina E posiciona-se em direção à superfície, e a cadeia lateral, em direção aos hidrocarbonos da membrana (figura 2). A figura 3 amplia os detalhes conhecidos sobre os mecanismos da ação antioxidante da vitamina E contra o ataque dos radicais livres à membrana celular.

Uma vez que o efeito da irradiação com fótons sobre os organismos vivos se processa, fundamentalmente, através da produção de radicais livres, o emprego da vitamina E como agente radioprotetor não deixa de fazer sentido.

extremidade fenólica

cadeia lateral

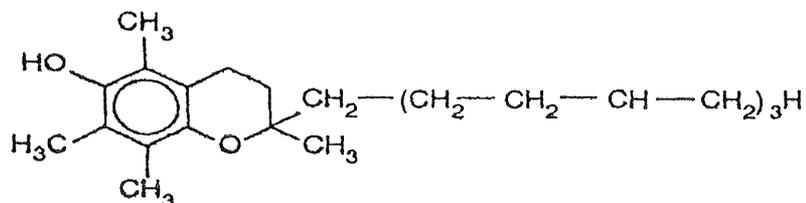


Figura 1: fórmula do α -tocoferol (vitamina E).

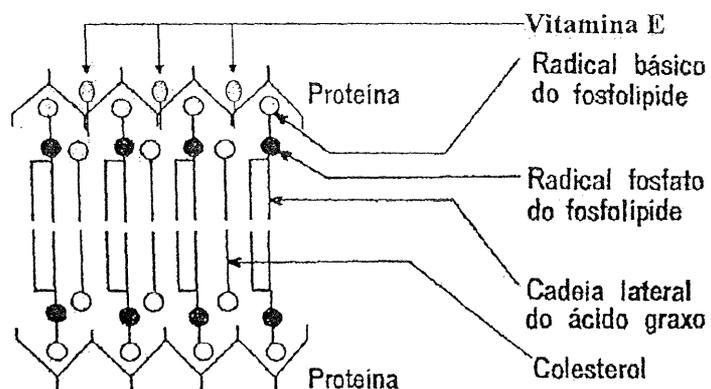


Figura 2: Estrutura lipoprotéica da membrana celular (adaptada de Junqueira et al, 1974]. A extremidade fenólica da vitamina E posiciona-se em direção à superfície da membrana, onde exerce sua função antioxidante.

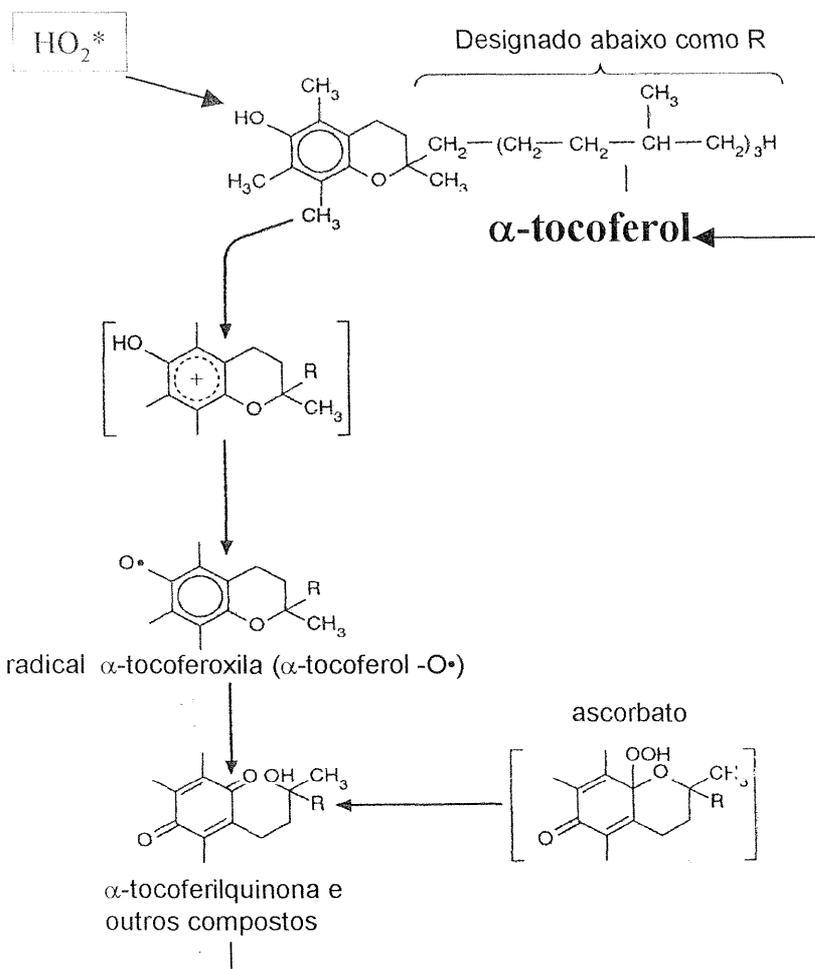


Figura 3: Inativação do radical livre hidroxiperoxil (HO_2^*) pelo α -tocoferol (vitamina E). Aderido à extremidade fenólica do α -tocoferol há um grupo hidroxila (OH), cujo átomo de hidrogênio é facilmente disponibilizado. Devido à grande afinidade com este átomo, o radical livre hidroxiperoxil sofre uma combinação química preferencial com a vitamina E ao invés de reagir com os ácidos graxos da membrana celular. Ao combinar-se com o radical HO_2^* , o α -tocoferol transforma-se em um novo radical, o α -tocoferoxila (α -tocoferol- O^\bullet), que é pobremente reativo. Acredita-se que, pelo menos *in vitro*, o radical α -tocoferoxila possa ser reconvertido para α -tocoferol pelo ácido ascórbico, glutatião e ubiquinona. Não está claro se esta reconversão ocorre também *in vivo* na membrana celular [adaptado de Ward et al, 1995].

2 PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA ESTOMATITE RADIOINDUZIDA

MEDIDAS GERAIS

Tradicionalmente, a higiene da cavidade oral e certos cuidados técnicos como a remoção de próteses, proteção com afastamento da mucosa jugal de peças dentárias, etc., têm sido os métodos mais utilizados na prevenção da ERI; porém, a eficácia deles é considerada limitada [Symonds, 1998]. A utilização de cremes dentais abrasivos, soluções orais irritativas, fumo, álcool, alimentos ácidos ou muito temperados, excessivamente quentes ou frios e de difícil cocção deveriam ser evitados [Loprinzi et al, 2000]. Na reunião de consenso de 1989 do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos [NIH Consensus, 1989], foram recomendadas algumas estratégias gerais para reduzir ou prevenir a ERI, dentre elas o aconselhamento do paciente e família sobre os efeitos colaterais da terapia, o tratamento de doença dentária preexistente e a prevenção de infecções da mucosa oral através do uso intensivo de creme dental fluorado, fio dental e enxágüe diário da boca com solução de flúor. O tratamento de focos infecciosos dentários foi indicado no mínimo 14 dias antes do início da radioterapia. Culturas bacterianas e fúngicas rotineiras não foram apontadas como necessárias. O uso profilático de aciclovir foi indicado em pacientes soropositivos com risco de ativação do vírus do herpes simples.

ANTI-SÉPTICOS ORAIS E ANTIINFLAMATÓRIOS

Várias substâncias para higiene oral e antiinflamatórios têm sido testados de forma não controlada em pacientes submetidos à radioterapia para câncer de cabeça e pescoço. Enxágües da boca com camomila, antes e durante o desenvolvimento da ERI em pacientes irradiados de diferentes formas devido a diversas patologias malignas, foram bem sucedidos na prevenção ou redução da intensidade das reações orais; porém, glicerina e timol, e glicerina e limão não tiveram eficácia [Hatton-Smith, 1994]. Avaliações de outros agentes por ensaios clínicos randomizados são recentes. Feber [1996] observou melhores resultados num grupo de pacientes tratados com solução salina em relação a um grupo tratado com peróxido de hidrogênio, sugerindo que limpezas mecânicas

freqüentes da boca podem ser mais importantes do que as propriedades anti-sépticas de determinados agentes, como o H_2O_2 . O anti-séptico clorhexidine e o antiinflamatório não hormonal benzidamina são medicações usadas popularmente no enxágüe da boca, mas nenhum deles teve sua eficácia comprovada. Spijkervet *et al.* [1989] revelaram que o índice de colonização por *Streptococcus viridans* foi reduzido após 5 semanas de uso de clorhexidine; porém, este agente não foi capaz de reduzir as contagens de *Streptococcus faecalis*, *Candida sp*, estafilococo, enterobactérias, pseudomonas e acinetobacter, e nem de diminuir significativamente a progressão e a intensidade da ERI. Foote *et al.* [1994] compararam clorhexidine com placebo. Houve maior tendência de ERI grave e toxicidade no braço do clorhexidine, cujos pacientes se queixaram de maior desconforto, alterações do paladar e alterações na coloração dos dentes ao usar o medicamento. Os autores concluíram que o clorhexidine foi, na verdade, prejudicial. Samaranayake *et al.* [1988] compararam clorhexidine com benzidamina em pacientes com tumores orais irradiados. Não houve diferença significativa nos escores de ERI entre os dois grupos; porém, 58% dos pacientes que utilizaram clorhexidine e 92% dos que utilizaram benzidamina relataram desconforto oral ao utilizarem topicamente essas substâncias. Os resultados indicaram que houve pouca diferença no controle da dor pela ERI e no crescimento dos microorganismos da flora oral. Epstein *et al.* [1989] compararam benzidamina com álcool a 10%, utilizando-os como anti-sépticos orais, e obtiveram resultados significativamente melhores com a benzidamina; porém, foi necessário diluir essa droga e utilizá-la em conjunto com lidocaína e uma variedade de analgésicos sistêmicos, os quais não foram levados em consideração na análise. Adamietz *et al.* [1998] utilizaram uma solução tópica oral de nistatina, rutoside, dexpanthenol e imunoglobulina em 40 pacientes tratados com radioterapia combinada à quimioterapia. Vinte desses pacientes utilizaram, adicionalmente, uma solução para enxágüe oral composta por iodopovidona e foram comparados com os demais pacientes que enxaguaram a boca com placebo. Houve significativa redução na incidência, intensidade e duração da estomatite no grupo tratado com iodopovidona paralelamente ao esquema padrão de profilaxia. Um recente estudo uruguaio testou o emprego de prednisona contra um placebo em 66 pacientes submetidos

a radioterapia hiperfracionada exclusiva [Leborgne *et al.*, 1998]. O intervalo de tempo de interrupção da radioterapia, requerido para a recuperação das membranas mucosas da boca devido à toxicidade, foi significativamente menor no grupo tratado com prednisona, mas não houve modificações quanto à intensidade e duração da ERI. Dois pequenos estudos-piloto também avaliaram o emprego de corticosteróides contra um placebo [Rothwell *et al.*, 1990; Abdelaal *et al.*, 1987]. Os resultados foram mais favoráveis ao grupo experimental em ambos os trabalhos.

ANTIBIÓTICOS

Os agentes bacterianos mais encontrados na flora da cavidade oral são anaeróbios, estreptococos e neissérias. Tanto o manuseio cirúrgico como a radioterapia interferem na função de barreira da mucosa oral. Após uma cirurgia extensa, áreas de enxerto e de cicatrização poderão ainda conter tecidos necróticos por um período variável de tempo, com possibilidade de serem colonizados por bactérias estranhas à flora normal. Neste caso, a radioterapia pode favorecer o crescimento bacteriano de duas maneiras. A primeira, por danificar e matar células em rápido crescimento na orofaringe, produzindo fragilização epitelial e ulceração. A segunda, por reduzir a produção de saliva, uma vez que as glândulas salivares freqüentemente estão incluídas nos campos de irradiação. A saliva remove bactérias e resíduos intra-orais de alimentos, além de conter imunoglobulina A, sendo ambos os fatores importantes na manutenção da flora bacteriana normal da mucosa [Symonds, 1998]. Bacilos Gram-negativos parecem também atuar no surgimento de ERI [Van Saene *et al.*, 1990]. Um estudo com 45 pacientes divididos em 3 grupos e submetidos a radioterapia exclusiva comparou o efeito dos antibióticos polimixina E, tobramicina e anfotericina B administrados na forma de pastilhas (grupo 1) com o uso tópico de clorhexidine (grupo 2) e placebo (grupo 3) [Spijkervet *et al.*, 1991]. Em todos os pacientes do grupo 1 a ERI ficou, significativamente, restrita apenas a um eritema. Empregando esses mesmos antibióticos em estudo semelhante, Okuno *et al.* [1997], porém, não encontraram diferenças significativas, embora o escore mediano da ERI e a duração dos sintomas nos pacientes com escores 3 e 4 tenham sido menores no grupo

dos antibióticos. Symonds *et al.* [1996] relataram os resultados de um outro ensaio clínico similar duplo-cego em 275 pacientes portadores de tumores T1-T4. Houve uma redução significativa na área da ERI, na disfagia e, especialmente, na perda de peso, favorecendo o grupo tratado com antibióticos. Pacientes com culturas positivas de anaeróbios, Gram-negativos e fungos durante o tratamento manifestaram uma clara tendência de desenvolver ERI mais intensamente.

ANTIULCEROSOS

Uma vez que a ERI enseja o surgimento de ulcerações na mucosa oral, a utilização preventiva de drogas indutoras da cicatrização de úlceras pépticas constitui-se numa possibilidade interessante. A droga deste modelo é o sucralfato, um composto de sucrose sulfatada utilizado no tratamento da úlcera duodenal, que forma uma barreira não absorvível tanto sobre a mucosa ulcerada como sobre a normal, e que tem sido extensivamente estudado. Contudo, os resultados de ensaios clínicos randomizados são conflitantes (tabela 2).

Em 1993, publicamos um ensaio clínico com sucralfato randomizando 79 pacientes portadores de tumores epiteliais da cabeça e pescoço tratados com radioterapia exclusiva ou combinada a quimioterapia [Ferreira 1993]. Houve uma redução significativa no surgimento de estomatite no grupo de pacientes tratados com quimioterapia neoadjuvante e radioterapia, mas nos pacientes tratados com radioterapia exclusiva essa redução não foi apreciável. Belka *et al.* [1997], numa recente revisão da literatura sobre o uso do sucralfato como agente radioprotetor, concluíram que, com exceção dos tumores pélvicos, nos quais essa substância determina alívio dos sintomas, na radioterapia dos tumores da cabeça e pescoço ela apresenta apenas benefícios limitados.

TABELA 2 - ESTUDOS RANDOMIZADOS COM SUCRALFATO UTILIZADO
 COMO AGENTE RADIOPROTETOR EM RADIOTERAPIA
 EXCLUSIVA – PORTO ALEGRE, 2000

AUTORES	ESTUDO DUPLO-CEGO	ASSOCIAÇÃO DE DROGAS	TOTAL DE PACIENTES	P
Lievens <i>et al.</i> [1998]	sim	não	102	NS*
Barker <i>et al.</i> [1991]	sim	difenidramina caolin-pectina	14	NS
Epstein <i>et al.</i> [1994]	sim	não	33	NS
Makkonen <i>et al.</i> [1994]	sim	não	40	NS
Ferreira [1993]	não	não	79	NS
Scherlacher <i>et al.</i> [1990]	não	não	45	< 0,05
Valls <i>et al.</i> [1991]	sim	não	34	0,03
Franzén <i>et al.</i> [1995]	sim	não	50	< 0,05

*NS: diferenças não-significativas.

PROSTAGLANDINAS E ANTIPROSTAGLANDINAS

Prostaglandinas são drogas radioprotetoras, especialmente do trato gastrintestinal [Symonds, 1998]. Utilizadas também em úlceras gástricas e úlceras crônicas da perna, produziram alguns resultados interessantes [Eriksson *et al.*, 1986; Cohen, 1983]. Um estudo piloto com 15 pacientes irradiados devido a tumores da cabeça e pescoço avaliou o papel da prostaglandina E (PGE₂) aplicada na mucosa oral [Matejka *et al.*, 1990]. Apenas uma reação inflamatória induzida pela radioterapia foi verificada nas vizinhanças do tumor em 5 pacientes tratados com a droga. Não foram observadas outras alterações. Um estudo não-randomizado e com pequeno número de pacientes também apontou para uma redução na intensidade da ERI em pacientes irradiados e tratados com prostaglandina [Sinzinger *et al.*, 1989]. Em um estudo fase III, dez pacientes com diagnóstico de carcinoma da mucosa oral receberam radioterapia combinada com quimioterapia e dinoprostone (prostaglandina E) [Porteder *et al.*, 1988]. Nenhum paciente

deste grupo apresentou estomatite intensa, ao contrário de 6/14 pacientes do grupo controle. Curiosamente, numa abordagem oposta, Pillsbury *et al.* [1986] avaliaram a participação das prostaglandinas na geração do processo inflamatório verificado na ERI. Comparada com placebo de forma duplo-cega em 19 pacientes, a indometacina, uma droga antiinflamatória inibidora das prostaglandinas, reduziu a intensidade e retardou o início da estomatite.

FATORES DE CRESCIMENTO DE COLÔNIAS

O fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) e o fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) são glicoproteínas pertencentes a uma família de substâncias estimuladoras da proliferação e da diferenciação celular de precursores de neutrófilos e monócitos/macrófagos [Symonds, 1998]. Inicialmente, a ação dessas substâncias foi considerada restrita às células hematopoiéticas, mas estudos laboratoriais mostraram que tanto o G-CSF quanto o GM-CSF influenciam a migração e a proliferação de células endoteliais humanas, sugerindo que possam atuar também como reguladores fora do sistema hematopoiético [Bussolino *et al.*, 1989]. O GM-CSF pode estimular a proliferação das células da mucosa oral por induzir um aumento da transcrição e tradução da interleucina 1 [Dinarello, 1991], a qual parece aumentar o índice proliferativo das células basais das mucosas, evitando lesões na mucosa oral induzidas pela irradiação de meio-corpo, irradiação localizada e quimioterapia em animais de laboratório [Zaghloul *et al.*, 1994]. Vários estudos evidenciaram a capacidade do G-CSF e GM-CSF de reverter mais precocemente a neutropenia – e também a estomatite – em pacientes tratados com quimioterapia [Chi *et al.*, 1995; Spandinger *et al.*, 1994; Gabrilove *et al.*, 1988]. Dois estudos fase II mostraram que o GM-CSF foi também capaz de reduzir a incidência de ERI em pacientes submetidos à radioterapia de todo o corpo para transplante de medula óssea, ou de meio-corpo para mielomatose refratária [Troussard *et al.*, 1995; Taylor *et al.*, 1989]. Outros dois estudos-piloto avaliaram a eficácia do GM-CSF em pacientes com tumores da cabeça e pescoço irradiados. Os resultados de Kannan *et al.* [1997] e Rosso *et al.*

[1997] com radioterapia e quimioterapia alternadas sugeriram que o emprego concomitante de GM-CSF e radioterapia não acarretou toxicidade significativa, e que esta droga pareceu produzir algum grau de proteção à mucosa oral. Em todos estes estudos, o uso de fatores estimulantes de colônias foi intravenoso ou subcutâneo. Há poucos anos, protocolos com GM-CSF aplicado topicamente na mucosa oral passaram a ser desenvolvidos [Throuvalas *et al.*, 1995].

AMIFOSTINA

Pertencente ao grupo dos aminotióis, a amifostina (ou WR-2721) é, possivelmente, a substância radioprotetora mais estudada até hoje [Felemovicius *et al.*, 1995]. Foi considerada por Wassermann *et al.* [1997] uma das mais promissoras para uso clínico, apesar de seus múltiplos efeitos colaterais (hipotensão, sonolência, náusea e vômito) a tornarem quase impraticável [Kligerman *et al.*, 1984]. Seu principal mecanismo de ação é a inativação dos radicais livres formados pela radioterapia ou por drogas antineoplásicas [Devi, 1998]. É uma droga de efeito radioprotetor seletivo em favor dos tecidos normais, provavelmente devido à hipovascularização, hipóxia e diminuição do pH verificadas nos tumores, sugerindo que sua concentração possa ser maior nos tecidos sadios em relação aos neoplásicos [Schuchter *et al.*, 1993]. Um estudo randomizado foi conduzido por Büntzel *et al.* [1998] para avaliar a atividade radioprotetora da amifostina em 39 pacientes com câncer de cabeça e pescoço submetidos a radioterapia combinada com quimioterapia. Foi observada uma significativa redução na frequência de escores 3 e 4 de estomatite sem interferência aparente no efeito terapêutico da irradiação. Um estudo de Wagner W. *et al.* [1998], com pequena casuística, utilizou dois grupos de pacientes submetidos à irradiação exclusiva, tendo um deles recebido amifostina e o outro não. Os resultados também evidenciaram uma redução significativa na intensidade e duração da ERI no grupo experimental.

VITAMINAS

Nos últimos doze anos, algumas vitaminas foram utilizadas experimentalmente como agentes protetores de mucosas. O ácido ascórbico (vitamina C) mostrou-se eficaz para proteger espermatogônias de camundongos contra a irradiação por ^{125}I [Narra et al, 1994]. O β -caroteno, um precursor da vitamina A capaz de induzir regressões perceptíveis em lesões leucoplásicas orais, foi utilizado em um estudo controlado não duplo-cego em pacientes tratados com radioterapia e quimioterapia [Mills, 1988]. Metade deles recebeu β -caroteno, e a outra metade não. Houve uma significativa redução da estomatite graus 3 e 4 no grupo que recebeu a droga. A vitamina E foi estudada na década de 1990, principalmente em animais de laboratório. Resultados significativos foram relatados na proteção da mucosa intestinal [Felemovicius *et al.*, 1995; Empey *et al.*, 1992 e Delaney *et al.*, 1992] e oral [Shaheen *et al.*, 1991] em roedores irradiados recebendo vitamina E por via sistêmica ou por aplicações tópicas. Em seres humanos, apenas um estudo avaliou o efeito radioprotetor da vitamina E em pacientes tratados com radioterapia, mesmo assim em associação a outras drogas similares e à quimioterapia. Osaki *et al.* [1994] desenharam um estudo fase III não duplo-cego com 63 pacientes portadores de tumores da cabeça e pescoço tratados com os antiláblicos 5-fluorouracil e peplomicina concomitantes à radioterapia. Um grupo de 37 pacientes recebeu doses diárias de azelastine (um antialérgico antagonista H1 da histamina com atividade antioxidante), vitamina C, vitamina E (200 mg) e glutatião. O grupo controle recebeu idêntico tratamento; porém, sem azelastine. Ao final do estudo, 21 pacientes do grupo com azelastine tiveram estomatites graus 1 e 2, enquanto que lesões de grau 3 e 4 foram observadas em 16 pacientes. No braço controle, estomatites graus 1 e 2 foram observadas somente em 5 pacientes, ao passo que lesões graus 3 e 4 foram observadas em 21 pacientes. Os autores concluíram que o azelastine pode ser útil na profilaxia da estomatite induzida pela combinação de quimioterapia e radioterapia. A vitamina E foi investigada por alguns autores como agente radioprotetor em pacientes tratados exclusivamente com quimioterapia. Wadleigh *et al.* [1992] avaliaram de modo randomizado e duplo-cego 18 pacientes com os mais diversos tipos de câncer

submetidos a diferentes regimes de quimioterapia. Um mililitro de vitamina E (400 mg) ou placebo (óleo de amendoim e soja) foram administrados topicamente duas vezes ao dia durante 5 dias sobre eventuais estomatites durante um ciclo do regime de quimioterapia. A duração da estomatite foi significativamente menor no grupo da vitamina E (mediana de 3 dias) em relação à duração nos pacientes do grupo placebo (somente um dentre nove pacientes apresentou cicatrização das lesões nos 5 dias de observação). Não foi observada toxicidade. Não pôde ser determinado neste estudo se o efeito radioprotetor da vitamina E foi resultado do uso tópico ou da sua absorção sistêmica. Os autores concluíram que o uso tópico da vitamina E é atóxico e seguro na prevenção da estomatite induzida por quimioterapia. Num estudo fase III, Lopez *et al.* [1994] avaliaram o efeito radioprotetor da vitamina E em 19 pacientes portadores de leucemia mielóide aguda tratados com dois regimes diferentes de quimioterapia (quimioterapia de indução ou quimioterapia intensiva seguida de transplante autólogo de medula óssea). Dez pacientes receberam topicamente sobre toda a mucosa oral 2 mililitros de vitamina E diariamente durante os 15 dias subseqüentes ao final da quimioterapia. A concentração não foi informada, mas pode ter sido de 800 mg (400 mg/ml). Nove pacientes do grupo placebo (óleo araquidônico) foram tratados de modo semelhante. A duração da estomatite em dias não mostrou diferenças apreciáveis entre os grupos. Entretanto, uma análise de subgrupos mostrou que, nos pacientes tratados com quimioterapia de indução e vitamina E, a duração da estomatite inferior ao grau 3 foi de 70 dias sobre 90 dias e de 18 dias em 60 dias naqueles que receberam placebo ($p < 0,001$). A conclusão foi de que, nos pacientes portadores de leucemia mielóide aguda tratados com quimioterapia de indução, a vitamina E diminuiu a duração da estomatite de graus 3 e 4. Paradoxalmente, estes autores mediram também as concentrações plasmáticas da vitamina E por cromatografia líquida de alta performance em todos os pacientes do estudo 48 horas após o uso tópico. Aqueles que receberam vitamina E apresentaram uma concentração média de 6,9 ng/ml, e os que receberam placebo, de 8,5 ng/ml ($p = 0,6$), taxas que foram consideradas normais por essa metodologia. Estes dados sugeriram que a absorção sistêmica da vitamina E nas doses utilizadas não parece ser significativa, e que a ação

protetora contra a quimioterapia parece ser principalmente local. No Brasil, Murad *et al.* [1995] utilizaram vitamina E a 2% associada a anestésico local, nistatina e benzidamina, topicamente (5 ml de solução em 50 ml de água) 4 vezes ao dia durante 5 dias em 15 pacientes submetidos a quimioterapia com diversas drogas e por vários tipos de câncer. Treze pacientes (86,6%) obtiveram remissão completa da estomatite em até 5 dias de tratamento. O risco relativo (RR) não foi informado. O intervalo de confiança de 95% (IC95%) foi de 0,68-1,0. Efeitos tóxicos não foram observados.

Existem também evidências de que a vitamina E seja capaz de inibir a formação ou retardar o crescimento de tumores em animais de experimentação [Shklar, 1982; Sloga *et al.*, 1977] e em seres humanos [Anon, 1994]. Algumas evidências epidemiológicas sugerem que os níveis séricos da vitamina E estão reduzidos em pacientes com tumores malignos [Watson *et al.*, 1986].

OUTROS AGENTES

A capsaicina, um dos ingredientes de condimentos à base de pimenta malagueta, tem sido utilizada em algumas síndromes dolorosas, principalmente as neuropáticas [Berger *et al.*, 1997]. Em um estudo-piloto com 11 pacientes submetidos a radioterapia combinada com quimioterapia, Berger *et al.* [1995] utilizaram capsaicina tópica na mucosa oral. Os escores de redução da dor foram altamente significativos. Um novo estudo duplo-cego, conduzido pelos mesmos autores, encontra-se em andamento.

Tem sido sugerido na literatura que a proliferação das células mucosas pode ser estimulada antes da radioterapia pelo uso do nitrato de prata, um agente cáustico. Num estudo de Maciejewski *et al.* [1992], 16 pacientes com câncer avançado de orofaringe ou cavidade oral foram submetidos a radioterapia hiperfracionada na dose total de 66-74 Gy dividida em dois cursos iguais com um intervalo de tempo de 9-12 dias entre eles, dependendo da intensidade da ERI. Nos 5 dias prévios ao início da radioterapia e nos 2 dias subseqüentes, a mucosa esquerda da boca dos pacientes foi pincelada 3 vezes ao dia com nitrato de prata a 2%. O lado direito foi mantido sem tratamento para atuar como

controle simétrico individual. A intensidade e a duração da ERI na mucosa pincelada com nitrato de prata foram significativamente menores.

O alginato sódico, um carboidrato extraído de algas marinhas e utilizado como complemento alimentar, mostrou capacidade de aliviar as reações indesejáveis na mucosa do esôfago e estômago determinadas pela radioterapia. Oshitani *et al.* [1990] randomizaram 39 pacientes irradiados na cavidade oral para receber alginato sódico ou placebo. Nos pacientes do grupo experimental houve significativa redução da dor e das ulcerações da mucosa oral, além do período de duração da radioterapia ser menor (menos interrupções por toxicidade) do que nos pacientes do grupo placebo.

3 UTILIZAÇÃO DE MICRONÚCLEOS COMO MARCADORES DO DANO NUCLEAR

A maioria dos estudos envolvendo drogas potencialmente radioprotetoras utiliza apenas parâmetros clínicos para determinar o grau de resposta, como a inspeção da mucosa irradiada e a atribuição de um escore de intensidade. Alguns pesquisadores, contudo, procuraram documentar o efeito dessas substâncias nos tecidos irradiados utilizando marcadores morfológicos e/ou laboratoriais (tabela 3).

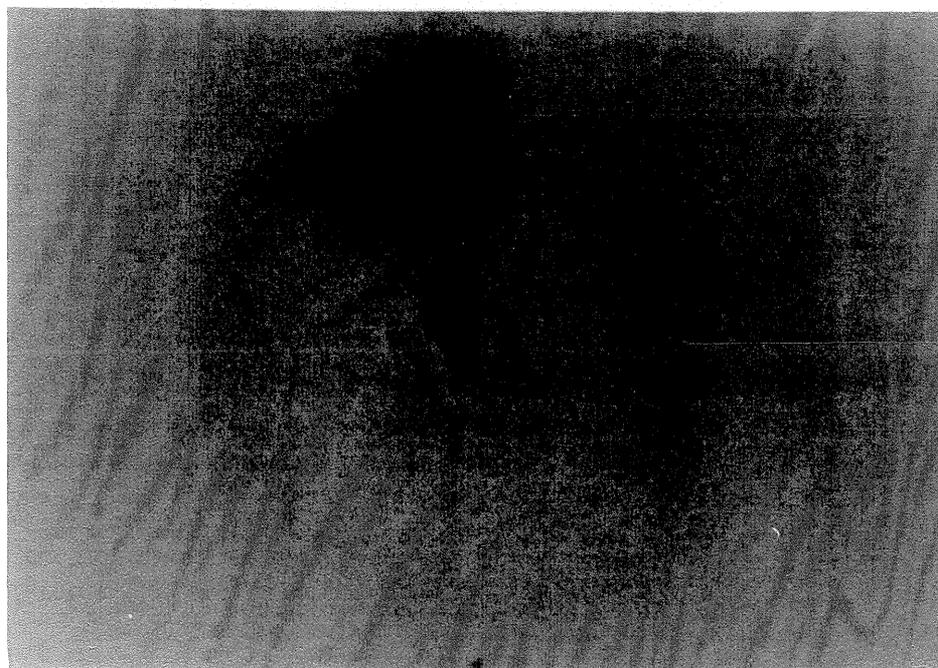


Figura 4: Fotomicrografia de uma célula micronucleada (Serviço de Citopatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre)

TABELA 3 - PRINCIPAIS MARCADORES MORFOLÓGICOS E/OU BIOQUÍMICOS DE RESPOSTA AO TRATAMENTO RADIOPROTETOR – PORTO ALEGRE, 2000

AUTORES	AGENTE	MUCOSA	MARCADORES	CONCLUSÃO
	PROTETOR	IRRADIADA		
Delaney <i>et al.</i> , [1992]	Troloxamina (análogo da vitamina E)	Alça intestinal	Contagem de criptas intestinais e espessura da mucosa em roedores.	Perda de criptas foi menor nos animais tratados.
Osaki <i>et al.</i> , [1994]	Azelastine Glutatião Vitamina E	Mucosa oral	Contagem de neutrófilos respiratórios, supressão de citocinas liberadas por linfócitos e atividade da dismutase-superóxido (SOD) de neutrófilos em seres humanos.	Suprimiu contagem de neutrófilos e liberação de citocinas. SOD foi marginalmente suprimida.
Makkonen <i>et al.</i> , [1994]	Sucralfato	Mucosa oral e faríngea	Dosagem de lactoferrina e albumina na saliva em seres humanos.	Concentração parece ser proporcional ao grau da lesão. Valor como marcador ainda requer estudos adicionais para confirmação.

Um tipo especial de marcador, chamado de micronúcleo, entretanto, tem sido reconhecido por alguns autores como um método mais específico na monitorização do dano genético causado pela radiação ionizante [Moore *et al.*, 1996; Beliën *et al.*, 1995]. Micronúcleos são definidos como fragmentos citoplasmáticos arredondados ou ovais de cromatina, visíveis microscopicamente próximos ao núcleo [Schmidz, 1975] (figura 4). Sob determinadas condições, células mitóticas com quebras de cromátides ou translocações podem sofrer distúrbios na distribuição da cromatina durante a anáfase. Esta cromatina deslocada pode não ser incluída no núcleo das células filhas, tornando-

se, portanto, um “micronúcleo” citoplasmático. Countryman *et al.* [1976] propuseram os principais critérios para a identificação de um micronúcleo (tabela 4).

TABELA 4 - CRITÉRIOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE MICRONÚCLEOS (ADAPTADO DE COUNTRYMAN *ET AL.*, 1976] – PORTO ALEGRE, 2000

UM CORPÚSCULO CITOPLASMÁTICO É CLASSIFICADO COMO MICRONÚCLEO SE PREENCHER OS SEGUINTE CRITÉRIOS:

- consistir em material nuclear;
 - estar completamente separado do núcleo de origem;
 - possuir uma área menor do que 1/5 do núcleo de origem a fim de não ser confundido com células binucleadas;
 - possuir uma intensidade luminosa, coloração e textura similares à do núcleo de origem quando corado pela acridina laranja;
 - estar localizado a uma distância correspondente a até 4 vezes o maior eixo do núcleo mais próximo;
 - não ser fragmentado;
 - ser arredondado ou oval;
 - estar no mesmo plano focal do núcleo.
-

Várias técnicas de coloração para o estudo de micronúcleos em células epiteliais exfoliadas da mucosa oral têm sido relatadas. Uma das mais eficientes é a de Feulgen, específica para DNA, detalhadamente descrita por Mikel e colaboradores [1985].

Em oncologia, a frequência de micronúcleos costuma ser proporcional ao dano celular recente causado por agentes mutagênicos, como as radiações ionizantes, drogas citotóxicas, carcinógenos, etc. [Beliën *et al.*, 1995; Daudt, 1992]. A frequência de células micronucleadas exfoliadas da mucosa oral ou brônquica tem permitido avaliar a sensibilidade às radiações ionizantes [Beliën *et al.*, 1995, Loomis *et al.*, 1990, Brooks *et*

al., 1990] e monitorar a eficácia de drogas quimiopreventivas em lesões orais pré-malignas, principalmente determinadas vitaminas. O β -caroteno (provitamina A), o retinol (vitamina A₁) e o α -tocoferol (vitamina E), drogas quimiopreventivas mais avaliadas por este método, causaram uma diminuição na contagem de micronúcleos em pacientes expostos a carcinógenos químicos e lesões orais pré-malignas [Benner *et al.*, 1994 e 1993, Van Poppel *et al.*, 1992, Stich *et al.*, 1988 e 1984, Rosin *et al.*, 1987]. Loomis *et al.* [1990] estudaram a frequência de micronúcleos em cada 1000 células epiteliais do escarro de trabalhadores em minas de urânio, excluindo as células obscuras, degeneradas, picnóticas e com cariólise. Embora não tenham encontrado uma associação significativa entre exposição à radiação e maior frequência de micronúcleos, estes autores assinalaram importantes fatores confusionais implicados na gênese de micronúcleos que deveriam ser considerados em novos estudos semelhantes, tais como a exposição ocasional a agentes químicos, ao gás radônio (um gás radioativo eventualmente contaminante do solo), tabagismo, etc.. Também observaram que as amostras devem ser coletadas quando pelo menos uma nova geração de células tenha surgido após a exposição de interesse (7-14 dias para células do epitélio bucal, segundo Sonis [1993]). Amostras muito precoces ou muito tardias tenderiam a subestimar a frequência das células micronucleadas. Uma “janela” de tempo apropriada para a coleta em relação ao ponto de exposição seria aquela requerida pelas células para completarem uma divisão e suas descendentes migrarem para a superfície epitelial. Não há, até o momento, registro de estudos com pacientes irradiados por câncer de cabeça e pescoço recebendo medicação radioprotetora experimental que tenham utilizado a contagem de micronúcleos em células epiteliais orais como marcador deste efeito.

4 FARMACOLOGIA DA VITAMINA E

QUÍMICA

A vitamina E é formada por quatro tocoferóis e quatro tocotrienóis. O α -tocoferol é, *in vivo*, o tocoferol mais abundante e o mais bioativo [Van Acker *et al.*, 1993]. A vitamina E

disponibilizada comercialmente é uma forma de α -tocoferol que inclui os isômeros D e L do α -tocoferol, do acetato de α -tocoferil ou do succinato de α -tocoferil. Cada 1 mg de DL- α -tocoferol equivale a 1,1 unidade internacional (UI). Quando expostos ao ar ou à luz ultravioleta, os tocoferóis deterioram-se lentamente.

NECESSIDADES HUMANAS

Os tocoferóis estão presentes em quantidades adequadas na dieta normal do adulto. A concentração plasmática normal costuma ser de 0,5 a 2,5 mg/dL [Lemons *et al.*, 1985]. No homem adulto submetido a carência nutricional prolongada, a concentração plasmática de vitamina E só declina significativamente após alguns meses. A deficiência não se expressa por síndrome clínica definida, sendo diagnosticada laboratorialmente [Moreira *et al.*, 1998]. Foi estimado que a ingestão diária de 10 a 30 mg de vitamina E é suficiente para manter sua concentração sanguínea dentro da faixa normal [Marcus *et al.*, 1991].

AÇÕES FARMACOLÓGICAS

A vitamina E é o antioxidante mais antigo conhecido, tendo sido descrita pela primeira vez em 1922 por Evans e Bishop. Mesmo assim, o seu papel terapêutico preciso ainda não está completamente estabelecido [Moreira *et al.*, 1998; Marcus *et al.*, 1991, Horwitt, 1980]. Até o momento, além da doença carencial, alguns autores reconhecem apenas a retinopatia da prematuridade (fibrodisplasia retrolental) e a síndrome da angústia respiratória do recém-nascido como potencialmente beneficiáveis pela terapia com vitamina E e observam que o seu uso tem-se estendido para inúmeras outras situações sem uma adequada fundamentação científica [Marcus *et al.*, 1996; American Medical Association, 1995; Oski, 1980].

ABSORÇÃO, DESTINO E EXCREÇÃO

A vitamina E é absorvida pelo trato gastrintestinal, numa proporção de 20 a 40% da dose ingerida, por um mecanismo semelhante ao de outras vitaminas lipossolúveis, sendo a bile essencial nesse processo [MacMahon *et al.*, 1970]. Ao penetrar na corrente sanguínea através da linfa, é metabolizada pelo fígado, predominantemente por glucuronidação. No sangue, a vitamina E associa-se a β -lipoproteínas plasmáticas e distribui-se por todos os tecidos, incluindo o líquido. Os metabólitos mais comuns são os glicuronídeos do ácido tocoferônico [Gilman *et al.*, 1985]. A meia-vida do *DL*- α -tocoferol após administração oral ou parenteral medida em crianças prematuras varia de 24 horas [Schulz *et al.*, 1986] a 44 horas [Colburn *et al.*, 1983]. Setenta a oitenta por cento de uma dose intravenosa de vitamina E radioativa são excretados pelo fígado em uma semana, e o restante aparece na forma de metabólitos na urina [Marcus *et al.*, 1991].

TOXICIDADE

Em geral, vitaminas antioxidantes são bastante seguras [Meyers *et al.*, 1996]. Doses altas, entre 20 a 80 vezes maiores que as necessidades diárias, podem causar náuseas, flatulência e diarreia. Grandes doses de vitamina E podem também aumentar a necessidade de vitamina K. Não é recomendado o uso simultâneo da vitamina E com anticoagulantes orais devido ao risco de sangramento [Baron *et al.*, 1998]. Este fato parece dever-se à interferência da vitamina E com a síntese de fatores do coágulo [Anon, 1982]. Hemorragias retinianas e intraventriculares foram observadas em recém-nascidos de baixo peso tratados com vitamina E [Phelps *et al.*, 1987]. Roberts [1978] relatou o surgimento de tromboflebite relacionada ao uso de vitamina E (doses de 400 a 800 UI/dia) em alguns pacientes portadores de doenças metabólicas, cardiovasculares ou endócrinas. Filardo *et al.* [1981], entretanto, consideram controverso este efeito, uma vez que a vitamina E tem sido usada na prevenção de doenças tromboembólicas, e propuseram a realização de estudos comparativos para esclarecimento. Concentrações plasmáticas maiores do que 3,5 mg/dL podem resultar em toxicidade [Lemons *et al.*, 1985]. Johnson *et al.* [1985] observaram que níveis plasmáticos prolongados superiores a

4,5 mg/dL se associaram a maior incidência de sepse bacteriana e enterocolite necrotizante; porém, estes resultados não foram confirmados por um estudo mais recente [Meyers *et al.*, 1996]. Há relatos de casos isolados de toxicidade cutânea (uso tópico após dermoabrasão da face) [Bazzano *et al.*, 1996] e hepática (infusão intravenosa na dose de 25-137 UI/kg/dia em recém-nascidos de baixo peso), bem como de maior risco de infecções em recém-nascidos de baixo peso [Meyers *et al.*, 1996].

ADMINISTRAÇÃO E USOS TERAPÊUTICOS

A correção da carência estabelecida em adultos pode ser feita com administração oral de altas doses de vitamina E (50 a 200 UI/kg por dia) [Marcus *et al.*, 1991]. Em geral, doses de vitaminas para situações não-carenciais também são altas. Seu limite superior é determinado pelo risco de toxicidade, especialmente para as lipossolúveis [Moreira *et al.*, 1998]. Em situações não carenciais, a vitamina E tem sido utilizada nas mais diversas doses e indicações, tais como no tratamento de anemia (600 mg/dia/30 dias) [Ono, 1985], leucoplasia oral (800 UI/dia/24 semanas) [Benner *et al.*, 1993], doenças benignas da mama (600 UI/dia/60 dias) [Hunter *et al.*, 1993], prevenção do câncer colo-retal (50 mg/dia/5-8 anos) [Anon, 1994], redução do infarto do miocárdio não-fatal (400-800 UI/dia) [Stephens *et al.*, 1996], redução de crises convulsivas em associação com outros agentes anticonvulsivantes (600 UI/dia/90 dias) [Raju *et al.*, 1994], inibição da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (1200 UI/dia/8 semanas), redução da hemoglobina glicosilada em diabéticos (400-800 UI/dia/2-6 meses) [Fuller *et al.*, 1996], etc..

5 SOBREVIDA COM RADIOTERAPIA EXCLUSIVA OU PÓS-OPERATÓRIA EM TUMORES DA CAVIDADE ORAL E FARINGE

A tabela 5 apresenta a sobrevida absoluta de pacientes tratados com radioterapia exclusiva ou pós-operatória em alguns tumores estádios I a IV da cavidade oral, faringe e regiões cervicais (áreas onde, necessariamente, grande área da mucosa oral é costumeiramente incluída nos campos de irradiação para uma adequada margem de

segurança) em algumas séries publicadas. A sobrevida em dois anos para os pacientes nos estádios III e IV variou de 55-73% e de 28,5-56%, respectivamente.

TABELA 5 - SOBREVIDA ABSOLUTA EM 2 E 5 ANOS RELACIONADA AO ESTÁDIO EM PACIENTES COM TUMORES DE CAVIDADE ORAL, OROFARINGE, RINOFARINGE E METÁSTASES CERVICAIS COM TUMOR PRIMITIVO IGNORADO TRATADOS COM RADIOTERAPIA EXCLUSIVA OU PÓS-OPERATÓRIA EM ALGUMAS SÉRIES PUBLICADAS – PORTO ALEGRE, 2000

LOCALIZAÇÃO	ESTÁDIO E SOBREVIDA (%)								REFERÊNCIA
	I		II		III		IV		
	ANOS	ANOS	ANOS	ANOS	ANOS	ANOS	ANOS	ANOS	
Loja amigdaliana	77	42	74	56	73	60	37	18	Million <i>et al</i> [1982]
Base da língua	90	90	90	90	65	45	35	15	Parsons <i>et al</i> [1982]
Trígono retromolar		77		77		60		24	Byers <i>et al</i> [1984]
Língua (porção oral)	58	45	73	59	71	30	56	8	Million <i>et al</i> [1982]
Assoalho da boca	82	75	78,5	57	71	41	28,5	0	Million <i>et al</i> [1982]
Rinofaringe	50	50	50	50	55	55	40	25	Perez [1997]
Metástases cervicais de tumor primário ignorado	NX-N1	NX-N1	N2A	N2A	N2B	N2B	N3B	N3B	Million <i>et al</i> [1984]
	100	83,3	100	100	80	50	0-50	0-50	

6 JUSTIFICATIVAS

O presente estrudo justifica-se pelos seguintes fatos:

- a inexistência de um agente radioprotetor reconhecidamente eficaz, seguro, de uso simplificado e econômico;
- o crescente número de investigações sobre o uso clínico da vitamina E como inativadora de radicais livres;
- os indícios de radioproteção determinados pela vitamina E em animais;

- a ausência de ensaios clínicos randomizados em que os tocoferóis tenham sido utilizados como droga radioprotetora única em pacientes tratados com radioterapia exclusiva ou pós-operatória em tumores malignos da cabeça e pescoço;
- a aparente simplicidade de uso, a segurança e o baixo custo relacionados à vitamina E em alguns estudos clínicos assemelhados.

III OBJETIVOS

O objetivo principal é avaliar se a vitamina E é capaz de diminuir significativamente a intensidade da ERI nas membranas mucosas da cavidade oral em pacientes com tumores da cabeça e pescoço tratados com radioterapia exclusiva ou pós-operatória. Os objetivos secundários são avaliar se a vitamina E é capaz de diminuir significativamente a duração da ERI, a perda ponderal e a frequência de células micronucleadas.

IV HIPÓTESE

A hipótese principal a ser testada é a de que a vitamina E diminui significativamente a frequência da ERI grave versus a alternativa de que não há uma diminuição significativa.

As hipóteses secundárias são de que a vitamina E diminua significativamente a duração da ERI, a perda ponderal e a frequência de células micronucleadas da cavidade oral versus a alternativa de que a ela não é capaz de diminuir significativamente estes fatores.

V PACIENTES E MÉTODOS

PACIENTES

Foram admitidos neste estudo pacientes com tumores malignos de cabeça e pescoço com indicação de radioterapia exclusiva ou pós-operatória que preencheram os seguintes critérios:

- terem comprovação diagnóstica por exame anatomopatológico de tumor maligno na cavidade oral, orofaringe, rinofaringe, seios maxilares ou metástases cervicais de tumor primário de localização indeterminada; portanto, em áreas onde, necessariamente, grande área da mucosa oral é costumeiramente incluída nos campos de irradiação para uma adequada margem de segurança;
- não terem sido portadores de outros tumores malignos prévios ou na vigência do tratamento;
- não terem recebido radioterapia e/ou quimioterapia prévia ou concomitantemente;
- terem um desempenho clínico (*performance status*) no máximo de grau II, pelos critérios da *Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)* [Zubrod, 1960], conforme a tabela 6;
- terem idade superior a 21 anos;
- não estarem recebendo anticoagulantes orais;
- terem uma área de irradiação de mucosa na cavidade oral igual ou superior a 12,2 cm² (por exemplo, 3,5 cm X 3,5 cm), ou seja, uma área de irradiação de mucosa oral julgada minimamente avaliável para os propósitos deste estudo, medida radiologicamente por um filme de verificação (figura 5). Os limites desta mensuração foram o bordo anterior do ramo da mandíbula (posterior), limite mais anterior do campo de tratamento (anterior), palato duro (superior) e metade da altura do corpo da mandíbula (inferior);
- terem assinado um consentimento informado concordando em participar do estudo (apêndice 1).

TABELA 6 - ESCALA DE QUALIDADE DE VIDA (*PERFORMANCE STATUS*) [ZUBROD, 1960] – PORTO ALEGRE, 2000

ECOG*/ZUBROD	DEFINIÇÃO
0	Assintomático.
1	Sintomático, completamente ambulatorial.
2	Sintomático, no leito menos do que 50% do dia.
3	Sintomático, no leito mais do que 50% do dia.
4	Restrito ao leito

*ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*

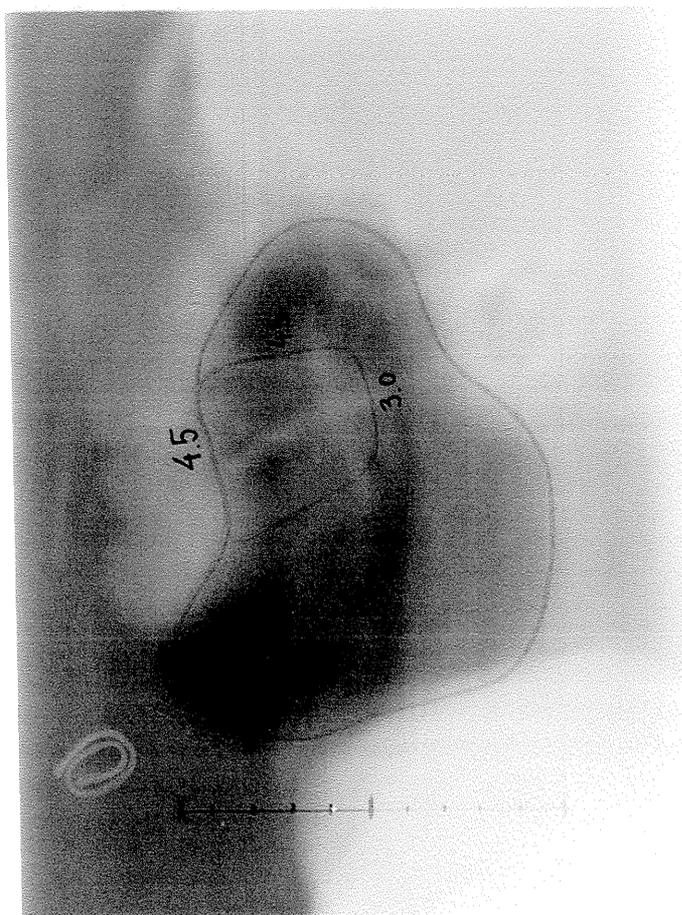


Figura 5: Exemplo de uma radiografia de verificação do campo de tratamento obtida na unidade de Telecobalto 60. Está assinalada a área mínima de mucosa oral irradiada.

A avaliação prévia ao início da radioterapia consistiu em anamnese, exame físico, exame detalhado do tumor e registro do peso. A classificação por estágio (TNM) obedeceu às regras da Classificação dos Tumores Malignos 5ª edição da UICC (União Internacional Contra o Câncer) [UICC, 1998]. Os seguintes exames subsidiários foram solicitados rotineiramente:

- tomografia computadorizada da cabeça e pescoço;
- estudo radiológico do tórax;
- hemograma.

Com a finalidade de restringir ao máximo a influência de patologias orais não-malignas preexistentes na gênese da ERI, antes do início da radioterapia os pacientes foram encaminhados para uma avaliação no Serviço de Estomatologia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Foi adotada a seguinte classificação e respectiva conceituação:

- dentes e mucosa oral normais;
- doença periodontal: processo inflamatório ou degenerativo que envolve tecidos de sustentação do dente, ou seja, membrana periodontal e osso alveolar [Shafer *et al.*, 1985];
- cárie dentária: doença microbiana dos tecidos calcificados dos dentes, caracterizada por desmineralização da parte inorgânica e destruição da substância orgânica do dente [Shafer *et al.*, 1985];
- pericoronarite: inflamação do folículo pericoronário, ou seja, do tecido que envolve a coroa de um dente em fase de erupção [Shafer *et al.*, 1985];
- gengivite: processo inflamatório gengival [Shafer *et al.*, 1985];
- língua saburrosa: alteração clínica da superfície dorsal da língua que pode ser causada tanto por acúmulo de microrresíduos alimentares e bactérias, ou mesmo por alongamento das papilas filiformes por distúrbio de maturação epitelial [Shafer *et al.*, 1985];

- leucoplasia: lesão oral de cor branca, hiperkeratótica, potencialmente cancerizável, secundária a tabagismo, alcoolismo, arsenicismo, sífilis, distúrbios hormonais, galvanismo, causas idiopáticas, etc. [Kellett, 1983];
- hiperplasia fibrosa: lesão nodular séssil, raramente ultrapassando 1 cm de diâmetro, localizada preferentemente nas mucosas jugal, labial e lingual, de etiologia traumática [Castro *et al.*, 1992].

A todos os pacientes foi recomendado o seguinte programa de higiene oral e demais cuidados a serem realizados durante o tratamento:

- enxaguar a cavidade oral com bicarbonato de sódio na concentração de uma colher de sopa em um litro de água após as refeições, com finalidade antibacteriana;
- enxaguar a cavidade oral com uma solução à base de flúor a 2% uma vez ao dia, diariamente, para profilaxia da cárie;
- abandonar fumo e álcool, e evitar o uso de refrigerantes carbonatados ou de alimentos demasiadamente quentes ou frios durante a radioterapia, visando a restringir a irritação das mucosas;
- retirar próteses móveis durante as sessões da radioterapia para evitar a irradiação secundária da cavidade oral por elétrons de baixa energia arrancados destes materiais pelos fótons incidentes. Este procedimento foi pessoalmente verificado por um técnico em radioterapia, diariamente, antes de cada sessão.

Este estudo, cujos procedimentos pautaram-se pelos padrões éticos da declaração de Helsinque de 1975 revisada em 1983, foi aprovado pelos Comitês Científico e de Bioética do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (apêndices 2 a 4). Após o término do tratamento os pacientes receberam recomendação de comparecer mensalmente ao serviço de radioterapia para acompanhamento. Quando isto não foi possível, obtivemos notícias sobre o estado de saúde e sobrevida através de contato telefônico com o médico assistente local, ou por correspondência com a família do paciente.

Consistiram em violações do protocolo as situações em que os pacientes:

- não receberam a dose de radioterapia prescrita;
- interromperam a radioterapia além de 3 sessões consecutivas (chance de ERI menos intensa devido ao maior intervalo entre as sessões);
- não utilizaram as medicações em estudo na forma adequada;
- utilizaram antiinflamatórios não hormonais, corticosteróides ou outras medicações que potencialmente poderiam interferir com a intensidade da ERI sem o conhecimento do pesquisador responsável pelo trabalho.

MÉTODOS

DELINEAMENTO

Ensaio clínico randomizado e duplo-cego. O delineamento esquemático está descrito na figura 6, abaixo.

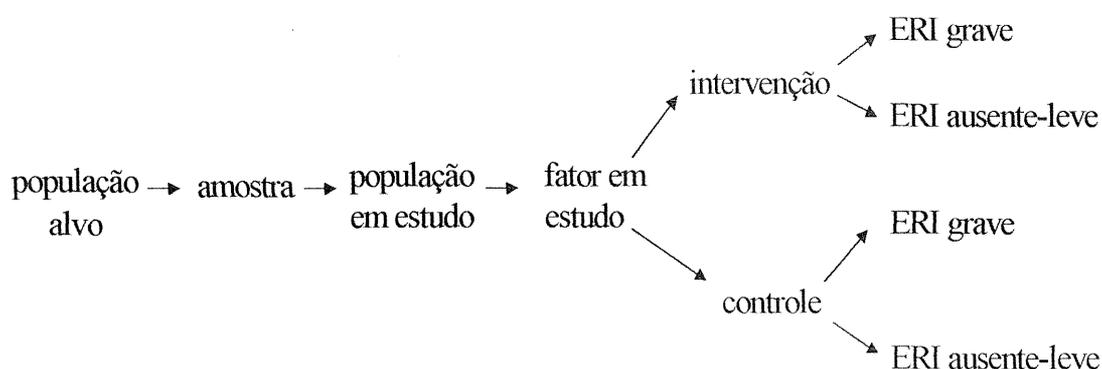


Figura 6: Esquema do delineamento:

- População alvo: pacientes com câncer de cabeça e pescoço candidatos à radioterapia exclusiva ou pós-operatória.
- Amostra: pacientes que preenchem os critérios de elegibilidade.
- População em estudo: pacientes efetivamente admitidos no estudo.
- Fator em estudo: efeito protetor da vitamina E
- Grupo intervenção: tratado com vitamina E.
- Grupo controle: tratado com placebo.
- ERI: estomatite radioinduzida (desfecho).

RADIOTERAPIA

Todos os pacientes foram tratados numa unidade de Telecobalto 60 (Theratron modelo Phoenix) do Serviço de Radioterapia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, operando a uma distância foco-pele de 80 cm. A radioterapia constou de uma sessão diária na dose de 2 Gy calculada na metade da espessura central do volume de tratamento (faringe ou cavidade oral) de segundas a sextas-feiras, através de dois campos laterais paralelos e opostos, incluindo o tumor primário, margens de segurança (mucosa normal adjacente) de no mínimo 2 cm, e cadeias linfáticas tributárias. Reduções progressivas nos tamanhos dos campos, centralizadas no tumor primário (ou na rinofaringe e base lingual para os casos de metástases cervicais com tumor primário indeterminado), mantendo a margem de segurança de 2 cm de mucosa normal, foram realizadas aos 44 Gy e 60 Gy para evitar toxicidade exagerada nos tecidos normais adjacentes, principalmente a medula espinhal (figura 7). Radiografias de verificação dos campos de irradiação (*check films*) realizadas na própria unidade de Telecobalto 60 foram obtidas no planejamento inicial, na 15ª sessão e antes de cada redução. A prescrição da dose total de radioterapia obedeceu aos seguintes critérios:

- 50 Gy/25 sessões/5 semanas: regime pós-operatório com margens cirúrgicas livres;
- 60 Gy/30 sessões/6 semanas: regime pós-operatório com margens cirúrgicas exíguas (menores do que 5 mm) ou comprometidas;
- 70 Gy/35 sessões/7 semanas: regime de radioterapia exclusiva.

Nos pacientes com metástases cervicais clinicamente palpáveis ou previamente operadas, assim como nos pacientes sem metástases cervicais detectáveis, mas com tumores primários de alto potencial de disseminação linfática (ex.: loja amigdaliana, rinofaringe e base lingual), foram acrescentados campos anteriores sobre os linfonodos das fossas supraclaviculares na dose de 50 Gy/25 sessões/5 semanas (figura 8).

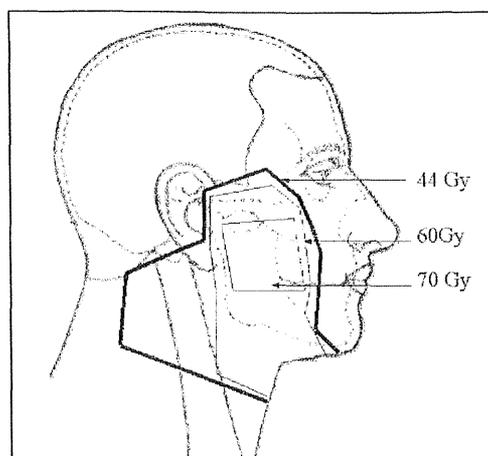


Figura 7: Exemplo de um diagrama dos campos cervicais laterais e as respectivas doses de radioterapia para um paciente com carcinoma de orofaringe.

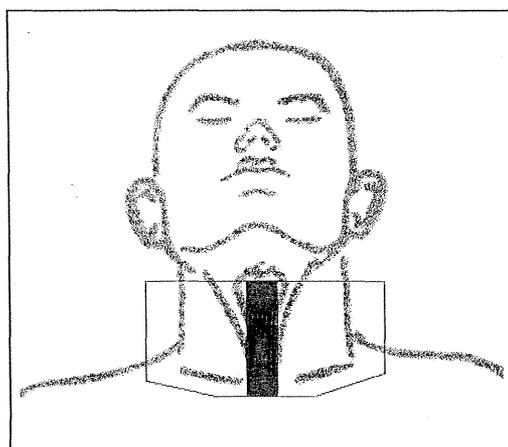


Figura 8: Exemplo de um campo anterior de irradiação abrangendo os linfonodos das fossas supraclaviculares em um paciente com metástases linfáticas cervicais e/ou com carcinoma de língua, rinofaringe ou loja amigdaliana. Centralmente há uma proteção da laringe e da medula espinhal.

RANDOMIZAÇÃO

O processo de randomização foi conduzido por duas físicas do Serviço de Radioterapia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, que elaboraram uma grade contendo 5 lacunas por linha (figura 9). Os pacientes foram distribuídos de forma aleatória (sorteio “cara ou coroa”), de acordo com um modelo descrito por Altman, D [1991a], em dois grupos: um recebeu vitamina E e o outro recebeu placebo. Os nomes dos pacientes foram sendo colocados nas caselas designadas de acordo com o grupo de randomização seguindo uma ordem horizontal. Periodicamente, novos grupos de 5 caselas eram embaralhados para aumentar o acaso. Por ser um ensaio fase III duplo-cego, o autor do trabalho não participou da randomização e teve acesso à identificação dos grupos apenas no encerramento do estudo.

Grupo vitamina E Nome:	Grupo Placebo Nome:	Grupo Placebo Nome:	Grupo vitamina E Nome:	Grupo Placebo Nome:
Grupo Placebo Nome:	Grupo vitamina E Nome:	Grupo vitamina E Nome:	Grupo vitamina E Nome:	Grupo Placebo Nome:
Grupo vitamina E Nome:	Grupo Placebo Nome:	Grupo vitamina E Nome:	Grupo Placebo Nome:	Grupo vitamina E Nome:

Figura 9: Exemplo de distribuição aleatória de pacientes nos grupos de vitamina E e placebo utilizado no estudo. A ordem de preenchimento das caselas foi horizontal.

MEDICAÇÕES UTILIZADAS

Cada paciente recebeu um frasco plástico fosco e padronizado o qual, semanalmente, foi preenchido com 10 cápsulas de vitamina E ou placebo, dependendo da randomização prévia. Em ambos os casos as cápsulas apresentavam forma, aspecto e textura semelhantes (figura 10): cor amarelo-dourada, conteúdo oleoso e envoltas por uma membrana gelatinosa. Cada cápsula de vitamina E (Ephynal[®], Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos, São Paulo, SP), continha 400 mg de DL- α -tocoferol (440 UI). Os pacientes utilizaram a medicação por via oral, iniciando-a no primeiro dia e encerrando-a no último dia da radioterapia, tendo sido orientados a mastigar a cápsula para formar uma solução com a saliva e enxaguar a cavidade oral durante 5 minutos.

Após, a solução deveria ser deglutida. Este procedimento, a ser executado apenas nos dias de radioterapia (segundas a sextas-feiras), constou de duas tomadas diárias: a primeira, nos 5 minutos precedentes à sessão da radioterapia e a segunda, após 8-12 horas, no domicílio do paciente. A adesão dos pacientes ao uso adequado da vitamina E ou placebo foi controlada semanalmente pela inspeção e reabastecimento dos frascos e por entrevista com o paciente e seus familiares.

Cada cápsula de placebo, fabricado por *Efamol Research Inc.* (Kentville, NS, Canadá), continha 500 mg de óleo de prímula (*Efamol Pure Evening Primrose Oil®*), tendo sido administrada de modo idêntico à vitamina E. Este óleo, extraído das sementes de uma planta da família das *Onagraceae* (*Oenothera biennis*) é composto, principalmente, pelos ácidos graxos oléico (8-12%), linoléico (65-75%), gama linoléico (8-11%), palmítico (5-8%), esteárico (1,5%) e outros (0,5%) [Teske *et al.*, 1994], mas contém, também,

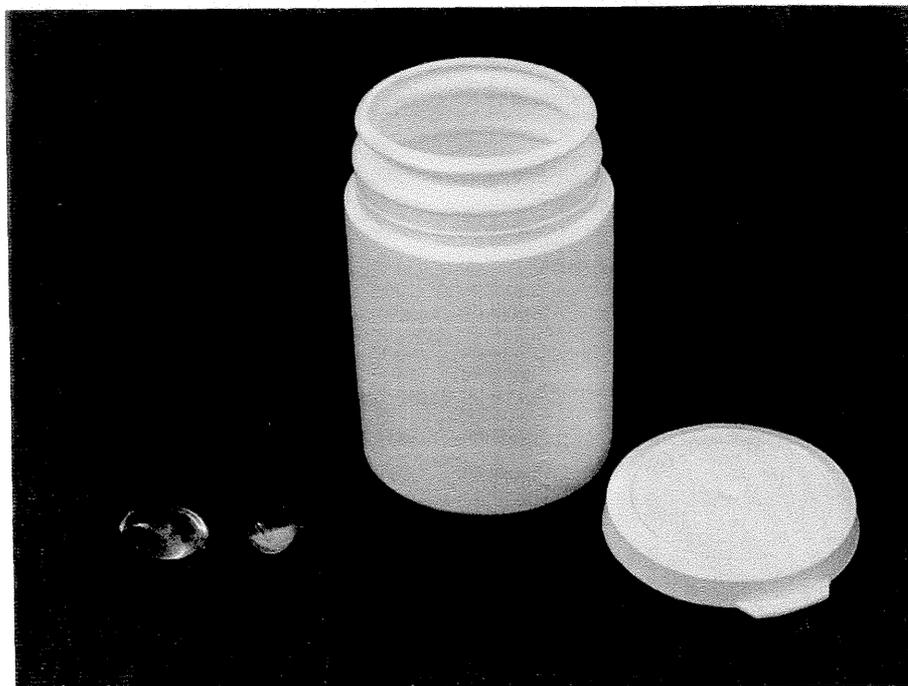


Figura 10: Foto das cápsulas de vitamina E e placebo, e do frasco fornecido aos pacientes.

de acordo com o fabricante, 2,5% de vitamina E em sua formulação (13 UI por cápsula de 500 mg).

Havendo necessidade de analgesia devido à intensidade da ERI durante a radioterapia, foram receitados analgésicos de uso oral, pelo mínimo prazo necessário, do tipo paracetamol/codeína (Tylex®, Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda., São Paulo, SP), 30 mg 3 a 4 vezes ao dia, ou dipirona/codeína/homatropina (Bromalgina®, Laboratório Clímax S.A., São Paulo, SP), 25 gotas 3 a 4 vezes ao dia. Antiinflamatórios hormonais ou não- hormonais não foram utilizados. Para o tratamento eletivo de monilíase oral foi utilizada solução oral de nistatina (Micostatin®, Bristol-Myers-Squibb Brasil S.A., São Paulo, SP) na dose de 200.000 unidades (2 ml) quatro vezes ao dia durante sete dias.

CRITÉRIOS PARA INTERRUPTÃO DO TRATAMENTO

Em virtude da potencial toxicidade aguda provocada pela irradiação, as seguintes situações clínicas foram estabelecidas previamente como critérios para interrupção temporária da radioterapia até a recuperação do paciente:

- presença de lesões muito dolorosas, sangrantes ou ulceradas nas membranas mucosas da cavidade oral requerendo alimentação enteral e/ou hospitalização;
- monilíase com resposta insatisfatória após quatro dias do uso de nistatina via oral;
- piora significativa do estado geral (*performance status* III-IV) por desnutrição, desidratação ou infecção.

As situações previstas para a suspensão da vitamina E foram as seguintes:

- hemorragia desproporcional à gravidade do tumor (volume, ulceração, invasão profunda, etc.).
- doenças tromboembólicas.
- bacteremia, septicemia ou enterocolite necrotizante.

MENSURAÇÃO DA ERI E COLETA DE CÉLULAS DA MUCOSA

A graduação da ERI e a coleta de células da mucosa oral para contagem de micronúcleos foram realizadas pelo autor deste projeto. A determinação do grau de estomatite baseou-se no exame da cavidade oral de cada paciente nas seguintes sessões de radioterapia, conforme a duração do tratamento:

- Na véspera da primeira sessão (semana 0);
- Na 5ª sessão (semana 1)
- Na 10ª sessão (semana 2)
- Na 15ª sessão (semana 3)
- Na 20ª sessão (semana 4)
- Na 25ª sessão (semana 5)
- Na 30ª sessão (semana 6)
- Na 35ª sessão (semana 7)

Em cada uma destas ocasiões, além de uma inspeção minuciosa na mucosa das regiões jugais, lingual, faríngeas e labiais, foi registrado o grau de ERI e o peso dos pacientes. Os dados foram computados numa ficha protocolar individual (apêndice 5). A classificação de ERI do RTOG/EORTC (*Radiation Therapy Oncology Group/European Organization for Research and Treatment of Cancer*) foi a adotada (tabela 7).

TABELA 7 - GRADUAÇÃO DO RTOG/EORTC PARA ESTOMATITE RADIO-INDUZIDA [COX ET AL., 1995] – PORTO ALEGRE, 2000

GRAU	PARÂMETRO
0	Sem anormalidades.
1	Edema. Dor leve. Não requer analgesia.
2	Estomatite com secreção serossanguinolenta. Dor moderada, requer analgesia.
3	Estomatite fibrinóide confluyente. Dor intensa, pode requerer narcóticos.
4	Ulceração, hemorragia ou necrose.

Para estabelecer mais claramente os parâmetros dessa classificação, algumas definições foram adotadas:

- Grau 0: Pacientes sem qualquer sintoma ou alteração visível na mucosa da cavidade oral ou orofaringe.
- Grau 1: Presença de hiperemia e/ou edema na mucosa (espessamento transparente ou esbranquiçado do epitélio) como únicas anormalidades visíveis, e/ou dor leve eventual (dor na cavidade oral ou faringe, com mais de 8 horas de intervalo, provocada, principalmente, pelo ato alimentar e dispensando analgesia).
- Grau 2: Presença de ruptura superficial da mucosa, unifocal, com formação de pseudomembrana, hiperemia e secreção serossanguinolenta e/ou dor moderada provocada pelo ato alimentar, requerendo uso de analgésicos comuns (dipirona).
- Grau 3: Presença de lesões superficiais multifocais confluentes e/ou dor intensa, não necessariamente associada ao ato alimentar, sem resposta satisfatória à analgesia comum, requerendo a associação de opiáceos (codeína-paracetamol ou morfina oral).
- Grau 4: Presença de ulceração profunda da mucosa com hemorragia e/ou necrose não associadamente ao tumor primário.

A distinção entre ERI e monilíase, uma patologia oral de aspecto semelhante, foi estabelecida pelos seguintes critérios:

- A ERI surge exclusivamente nas áreas irradiadas.
- A monilíase oral costuma ter aspecto de placas brancas circundadas por um halo avermelhado, que se desprende com dificuldade da mucosa.
- Em casos duvidosos, deveria ser realizado exame cultural da lesão.

Com a finalidade de quantificar micronúcleos nas células da mucosa oral, cada paciente foi submetido a uma coleta de células da região anterior ao trígono retromolar bilateralmente, pelo médico responsável pelo estudo, uma vez a cada sete dias (semanas

0-7) nas mesmas ocasiões de mensuração da ERI. O procedimento foi executado com a seguinte técnica:

- Enxágüe inicial da boca com água durante 1 minuto visando à eliminação de resíduos alimentares.
- Raspagem branda das áreas de coleta com uma espátula de madeira (abaixador de língua), visando à remoção de eventuais detritos celulares e bactérias.
- Raspagem das áreas de coleta com duas escovas descartáveis (uma para cada lado) de citologia ginecológica marca Vagispec® (Adlin Plásticos, Jaraguá do Sul, SC).
- Obtenção de um esfregaço do material celular colhido em duas lâminas de microscopia com uma extremidade fosca, onde foi registrado á lapis o número protocolar do paciente e a sessão da radioterapia.
- Fixação do material em álcool 95°.
- Coloração pelo método de Feulgen exatamente como descrito por Mikel UV e colaboradores [1985]. Os reativos foram fabricados por Merck S.A. Indústrias Químicas e Farmacêuticas (Rio de Janeiro).

QUANTIFICAÇÃO DE MICRONÚCLEOS

O método de Feulgen foi escolhido porque é específico para o DNA, corando apenas estruturas nucleares e não corando estruturas citoplasmáticas que possam ser confundidas com micronúcleos. Resumidamente, esta técnica consiste em duas etapas. Na primeira, após a fixação, mergulha-se a lâmina em solução aquecida de ácido clorídrico visando a uma hidrolisação das bases púricas. Isto libera as extremidades da desoxirribose, que possuem radicais aldeídicos. Na segunda etapa, trata-se o preparado pelo reativo de Schiff (uma solução de fucsina básica descorada pelo anidro sulfuroso) que, ao combinar-se com os grupamentos aldeídicos da desoxirribose, forma um complexo de cor vermelha [Junqueira *et al.*, 1997].

Todas as lâminas contendo células da cavidade oral foram coradas e examinadas no Serviço de Citopatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, respeitando-se a

premissa de “cegamento” dos profissionais envolvidos na pesquisa. Os critérios utilizados para definição de micronúcleo foram os descritos por Countryman *et al.*, [1976], com adaptação (tabela 4). A frequência de micronúcleos foi estabelecida para cada 1000 células normais exfoliadas, tendo sido desconsideradas as células contendo cariólise, cariorréxis, fragmentação nuclear ou picnose, conforme recomendação de Loomis *et al.* [1990]. Lâminas com número de células íntegras menor do que 1000, lâminas contendo células danificadas ou com grande quantidade de bactérias, fungos e leucócitos, foram desprezadas. O exame microscópico do material foi triado por ordem de chegada por uma citotécnica, a qual marcava as células micronucleadas diretamente sobre a lâmina com uma caneta para retroprojeter. Periodicamente, todas as lâminas foram reavaliadas por uma médica citopatologista, que realizou a contagem e registrou o número de micronúcleos por 1000 células. Resultados divergentes foram, posteriormente, discutidos em conjunto. Foi utilizado um microscópio Zeiss modelo Standart 20, com aumentos de 10 e 40 vezes.

CONSIDERAÇÕES ESTATÍSTICAS

Para obter os parâmetros necessários ao cálculo do tamanho da amostra planejou-se um estudo piloto, no qual os pacientes foram divididos em dois grupos: “vitamina E” (grupo intervenção) e “placebo” (grupo controle). A questão central a ser respondida era “se a utilização da vitamina E concomitantemente à radioterapia dos tumores da cavidade oral, rinofaringe, orofaringe ou metástases cervicais de tumor primário desconhecido seria capaz de diminuir a intensidade (grau) da ERI”. Para os propósitos deste estudo, os pacientes foram classificados em duas categorias com relação à intensidade da ERI, com base nos critérios do RTOG/EORTC: ERI ausente/leve (graus 0 e 1) e ERI grave (graus 2 a 4). Como as doses totais de radioterapia deveriam variar conforme o caso (exclusiva ou pós-operatória), foi esperado que nem todos os pacientes completassem as 7 semanas de tratamento. “Pacientes-semana” foram definidos como aqueles pacientes presentes no estudo em cada semana do tratamento, expostos ao fator (ERI), e recebendo a intervenção (radioterapia e medicação ativa ou placebo). Cada

registro semanal do grau de ERI consistiu num evento. Foi calculada uma densidade de incidências de eventos graves nas semanas 0 a 7; isto é, uma medida de ocorrência de doença resultante do número de casos novos ou de pacientes que desenvolvem a doença (eventos graves) dividido pelo número de pessoas-tempo em risco (pacientes-semana) [Wagner MB, 1998]. As incidências de ERI grave entre ambos os grupos foram utilizados para o cálculo do tamanho da amostra de acordo com o método descrito por Fleiss [1981]. Foram estipulados um nível de significância de 5% e um poder de 80% para testar uma diferença mínima de incidências de pelo menos 15 eventos (e.g.: ERI e óbitos) para cada 100 pacientes-semana (por exemplo, 35 eventos/100 pacientes-semana no grupo da vitamina E versus 20 eventos/100 pacientes-semana no grupo placebo).

No estudo com a amostra definitiva, a avaliação do efeito da vitamina E sobre a intensidade da ERI permaneceu como questão central. Investigações secundárias foram realizadas entre os grupos sobre diferenças na duração da ERI, perda ponderal e sobrevida. Mantendo-se os mesmos níveis de significância e poder estatístico, o tamanho amostral calculado foi suficiente para detectar diferenças de pelo menos 10 dias no que se refere à duração da ERI grave, diferenças de pelo menos 11 kg em relação à perda ponderal e de pelo menos duas células micronucleadas entre os dois grupos analisados.

Todos os pacientes randomizados foram mantidos no estudo. O modelo de análise adotado foi pela "intenção de tratar". Os que faleceram durante o tratamento, ou que perderam o acompanhamento, foram considerados como tendo tido progressão do tumor, a menos que houvesse uma evidência, definida por autópsia, de morte relacionada aos tratamentos ou a outras causas. A análise de fatores pré-tratamento, bem como das diferenças de intensidade da ERI, de complicações e de índices de falhas foi baseada no teste do Qui-Quadrado de Pearson [Snedecor *et al.*, 1967], com intervalos de confiança de 95%. A média foi utilizada como medida de centralidade para distribuições simétricas; isto é, com desvio padrão (DP) menor que 50%. Caso contrário, a mediana foi o parâmetro escolhido. O teste *t* de Student foi utilizado para medir diferenças entre médias, e o teste de Mann-Whitney foi utilizado para medir diferenças

entre medianas [Altman D, 1991b]. As estimativas para curvas atuariais de sobrevida foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier [Kaplan *et al.*, 1958]. Sobrevida absoluta foi definida como o período de tempo compreendido entre a última sessão de radioterapia e o óbito ou o término do estudo, tendo sido computados os óbitos associadas ao tumor maligno ou a outras causas. Diferenças nas curvas de sobrevida entre ambos os grupos foram comparadas pelo teste *Log Rank* [Cox, 1972]. Todos os valores de p foram bidirecionais. Os programas Epi-Info [Dean *et al.*, 1997] e SPSS 8.0 para *Windows* foram empregados como banco de dados e planilha eletrônica.

VI RESULTADOS

ESTUDO PILOTO

Este estudo iniciou em dezembro de 1997. Os primeiros 28 pacientes admitidos (14 em cada grupo) consistiram em nosso estudo piloto, cujos resultados foram analisados em dezembro de 1998. Os pacientes do grupo vitamina E (84 pacientes-semana) apresentaram 17 (20,2%) eventos de ERI grave e os do grupo placebo (85 pacientes-semana), 31 (36,5%) (RR=0,55, IC95%=0,33-0,92, p=0,030), conforme a tabela 8. Estimou-se o tamanho mínimo amostral de 151 pacientes-semana por grupo (ver anexo). Com o prosseguimento da pesquisa, os pacientes do estudo-piloto foram incorporados à amostra definitiva, uma vez que os mesmos critérios amostrais e metodológicos foram mantidos.

CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES

Até dezembro de 1999, data de encerramento do estudo, um total de 76 pacientes com diagnóstico de câncer de cabeça e pescoço de várias localizações anatômicas havia sido avaliado pelo pesquisador principal. Destes, 54 pacientes foram considerados elegíveis e constituíram a amostra deste estudo. A distribuição por sexo, idade, tipo histológico, localização anatômica do tumor e estágio está apresentada na tabela 9. A maioria dos pacientes foi do sexo masculino. A idade média da amostra foi de 55,4 anos (DP= 12,5). A faixa etária predominante no grupo da vitamina E foi dos 50-59 anos (42,9%), e no grupo placebo, dos 60-69 anos (30,8%). O carcinoma epidermóide e os tumores da cavidade oral foram os predominantes. Não houve diferenças significativas na distribuição dessas características entre ambos os grupos. A distribuição pormenorizada de acordo com os descritores T, N e M é mostrada na tabela 10. Quarenta pacientes (74,0%) eram portadores de tumores localmente avançados (estádios III e IV): 24/28 (85,7%) pertenciam ao grupo da vitamina E e 16/26 (61,5%) pertenciam ao grupo placebo (RR= 1,39, IC95%=0,99-1,96, p=0,086).

TABELA 8 - ESTUDO-PILOTO: FREQUÊNCIAS DE EVENTOS DE ESTOMATITE RADIOINDUZIDA GRAUS 2 A 4 DE ACORDO COM A SEMANA DA RADIOTERAPIA E O NÚMERO DE PACIENTES-SEMANA – PORTO ALEGRE, 2000.

REGISTROS DE ERI GRAVE						
GRUPO VITAMINA E (14 PACIENTES)				GRUPO PLACEBO (14 PACIENTES)		
Semana	Eventos	Eventos por		Eventos	Eventos por	
		Pacientes- semana	100 pacientes- semana*		Pacientes- semana	100 pacientes- semana*
1	0	14	(0)	0	14	(0)
2	2	14	(14,3)	4	14	(28,6)
3	3	14	(21,4)	5	14	(35,7)
4	5	14	(35,7)	5	14	(35,7)
5	2	13	(15,4)	8	14	(57,1)
6	4	11	(36,4)	7	10	(70,0)
7	1	4	(25,0)	2	5	(40,0)
TOTAL	17	84 (100)	(20,2)	31	85 (100)	(36,5)

* Corresponde ao percentual de eventos em relação aos pacientes-semana.

TABELA 9 - CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS PACIENTES – PORTO ALEGRE, 2000
NÚMERO DE PACIENTES POR GRUPO (%)

Características	Vitamina E		Placebo		p
SEXO					0,999
Masculino	25	(89,3)	23	(88,5)	
Feminino	3	(10,7)	3	(11,5)	
IDADE					0,268
Média (desvio padrão)	53,5 (9,1)		57,3 (15,3)		
HISTOLOGIA					0,347
Carcinoma epidermóide	26	(92,8)	21	(80,8)	
Carcinoma indiferenciado	1	(3,6)	3	(11,5)	
Linfoepitelioma	0	(0)	1	(3,8)	
Carcinoma adenóide cístico	0	(0)	1	(3,8)	
Fibrossarcoma	1	(3,6)	0	(0)	
LOCAL ANATÔMICO					0,456
Rinofaringe	2	(7,1)	1	(3,8)	
Loja amigdaliana	8	(28,6)	5	(19,2)	
Base da língua	5	(17,8)	2	(7,7)	
Trígono retromolar	1	(3,6)	2	(7,7)	
Palato mole	0	(0)	1	(3,8)	
Língua porção oral	7	(25,0)	9	(34,6)	
Assoalho da boca	4	(14,3)	3	(11,5)	
Metástases cervicais (tumor 1 ^{ário} desconhecido)	1	(3,6)	3	(11,5)	
ESTÁDIO					0,142
I	0	(0)	3	(11,5)	
II	4	(14,3)	7	(26,9)	
III	5	(17,8)	4	(15,4)	
IV	19	(67,9)	12	(46,2)	
CIRURGIA PRÉVIA					0,840
Sim	18	(64,3)	17	(65,4)	
Não	10	(35,7)	9	(34,6)	
TABAGISMO					0,603
Sim	27	(96,4)	24	(92,3)	
Não	1	(3,6)	2	(7,7)	
ETILISMO					0,878
Sim	21	(75,0)	20	(77,0)	
Não	7	(25,0)	6	(23,0)	

TABELA 10 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM O GRUPO DE TRATAMENTO E O ESTÁDIO TNM – PORTO ALEGRE, 2000

GRUPO	DESCRITOR					TOTAL (%)
	T	N0	N1	N2	N3	
Vitamina E	0	0	0	0	0	0 (0)
	1	0	2	0	0	2 (7,1)
	2	2	3	2	2	9 (32,1)
	3	1	1	2	0	4 (14,3)
	4	2	6	3	2	13 (46,4)
	TOTAL (%)	5 (17,8)	12 (42,8)	7 (25,0)	4 (14,3)	28 (100)
Placebo	0	0	0	0	0	0 (0)
	1	3	0	1	0	4 (15,4)
	2	7	1	0	0	8 (30,7)
	3	2	1	0	0	3 (11,5)
	4	5	0	1	5	11 (42,3)
	TOTAL (%)	17 (65,4)	2 (7,7)	2 (7,7)	5 (19,2)	26 (100)

A maioria dos pacientes em ambos os grupos havia sido submetida à ressecção prévia do tumor primário ou de metástases cervicais. Mais de 90% dos pacientes eram fumantes e mais de 75% tinham história progressiva de consumo diário de álcool antes do início do tratamento. Seis pacientes do grupo da vitamina E e cinco do grupo placebo continuaram fumando durante o período de radioterapia. Em dois pacientes de cada grupo foi possível constatar o uso diário de álcool durante a radioterapia. Cerca de 85% dos pacientes do grupo vitamina E e de cerca de 80% dos pacientes do grupo placebo submeteram-se à avaliação estomatológica (tabela 11). A frequência das alterações estomatológicas encontradas foi homogênea entre ambos os grupos ($p=0,610$).

Restaurações, extrações e outros procedimentos odontológicos invasivos não foram necessários antes do início da radioterapia.

TABELA 11 - CLASSIFICAÇÃO DA AVALIAÇÃO ODONTOLÓGICA/
ESTOMATOLÓGICA PRÉVIA À RADIOTERAPIA* – PORTO
ALEGRE, 2000

ALTERAÇÃO	GRUPO VITAMINA E		GRUPO PLACEBO	
	Pacientes	(%)	Pacientes	(%)
DENTES E MUCOSA ORAL NORMAIS	5	(17,8)	10	(38,5)
ALTERAÇÕES ISOLADAS				
Doença periodontal	5	(17,8)	4	(15,4)
Língua saburrosa	3	(10,7)	1	(3,8)
Hiperplasia fibrosa	2	(7,1)	1	(3,8)
Gengivite	1	(3,6)	1	(3,8)
ALTERAÇÕES MÚLTIPLAS				
Doença periodontal, cárie, língua saburrosa, pericoronarite e hiperplasia fibrosa	8	(28,6)	4	(15,4)
AVALIAÇÃO NÃO-REALIZADA	4	(14,3)	5	(19,2)
TOTAL	28	(100)	26	(100)

*p=0,610

CARACTERÍSTICAS DO TRATAMENTO

Os pacientes do grupo da vitamina E permaneceram em média 5,9 semanas em radioterapia e receberam uma dose de 59 Gy (DP=0,999), e os pacientes do grupo placebo permaneceram em média 6,2 semanas e receberam uma dose de 62 Gy (DP=0,749, p= 0,350). A área mediana de mucosa oral irradiada no grupo vitamina E foi de 20,7 cm² (mínima= 12,2 e máxima= 33,8) e no grupo placebo, de 22,9 cm² (mínima=

12,5 e máxima= 35,0) ($p= 0,176$). Trinta por cento dos pacientes compareceram para o acompanhamento mensal após a conclusão do tratamento. O período mediano de acompanhamento destes pacientes, desde a conclusão da radioterapia até o final do estudo ou óbito, foi de 3 meses (mínimo= zero e máximo= 20).

ÍNDICES DE SOBREVIDA

Ao final de 24 meses a probabilidade de um paciente estar vivo foi de 44,8%, com uma sobrevida mediana de 9,5 meses (mínima: 2 e máxima: 24), conforme a figura 11. As probabilidades de sobrevida no mesmo período e as sobrevidas medianas foram de 32,2% e 8,5 meses (mínima: 2 e máxima: 24) para os pacientes que receberam vitamina E e 62,9% e 12,5 meses (mínima: 2 e máxima: 23) para os pacientes que receberam placebo ($p=0,126$). Devido ao predomínio de pacientes com estádios avançados no grupo da vitamina E, foi realizada uma análise de sobrevida estratificando-se somente os pacientes nos estádios III e IV (figura 12). A probabilidade de um paciente estar vivo ao final do período e a sobrevida mediana para os pacientes do grupo da vitamina E e do grupo placebo foram de 21,9% e 12 meses, e de 37,1% e 16 meses, respectivamente ($p=0,675$).

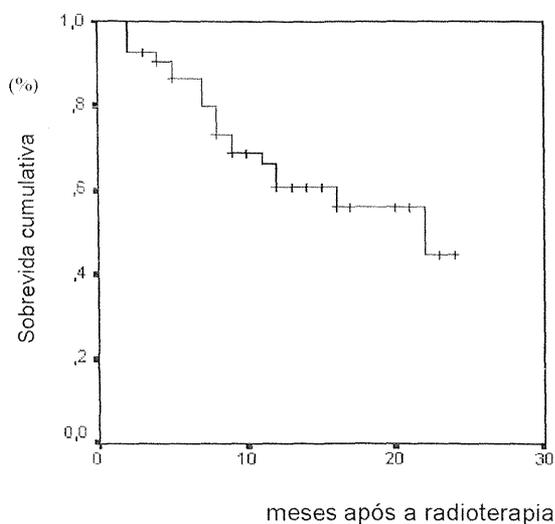


Figura 11: Sobrevida absoluta de pacientes irradiados por câncer de orofaringe, rinofaringe cavidade oral e metástases cervicais de tumor primário não identificado.

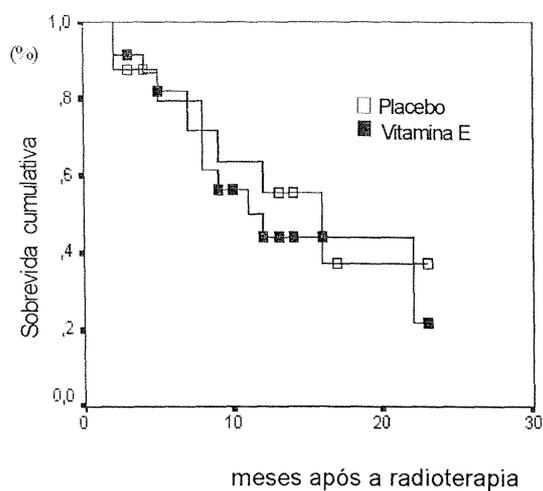


Figura 12: Sobrevida absoluta de pacientes com câncer de orofaringe, rinofaringe cavidade oral e com metástases cervicais de tumor primário não identificado estádios III e IV, de acordo com o grupo de tratamento ($p=0,675$).

INTENSIDADE E DURAÇÃO DA ERI, E PERDA PONDERAL

A tabela 12 analisa a frequência de eventos de ERI de intensidade grave de acordo com a semana da radioterapia. Os eventos de ERI grave foram mais frequentes nos pacientes do grupo placebo (54/161= 33,5%) do que nos do grupo vitamina E (36/167= 21,6%), conforme a tabela 13 (RR= 0,643, IC95%=0,42-0,98, p=0,038). De acordo com este cálculo, são necessários 8,3 unidades de pacientes-semana em tratamento para que a vitamina E seja capaz de evitar um evento. Os picos de incidência de ERI grave de acordo com o grupo de tratamento foram, respectivamente para a vitamina E e placebo, na 6ª e 5ª semanas (figura 13).

TABELA 12 - FREQUÊNCIA DOS EVENTOS DE ERI GRAUS 2 A 4 EM 54 PACIENTES DE ACORDO COM A SEMANA DA RADIOTERAPIA E O NÚMERO DE PACIENTES-SEMANA – PORTO ALEGRE, 2000

REGISTROS DE ERI GRAVE						
Semana	Eventos	GRUPO VITAMINA E (28 PACIENTES)		GRUPO PLACEBO (26 PACIENTES)		
		Pacientes- semana	Eventos por	Pacientes- semana	Eventos por	
			100 pacientes- semana*		100 pacientes- semana*	semana*
1	1	28	(3,6)	0	26	(0)
2	4	28	(14,3)	7	26	(27,0)
3	8	28	(28,6)	10	26	(38,5)
4	8	27	(29,6)	11	26	(42,3)
5	5	25	(20,0)	13	26	(50,0)
6	8	23	(34,8)	9	21	(42,9)
7	2	8	(25,0)	4	10	(40,0)
TOTAL	36	167	(21,6)	54	161	(33,5)

* Corresponde ao percentual de eventos em relação aos pacientes-semana.

TABELA 13 - DENSIDADE DE INCIDÊNCIAS DE ERI GRAVE (GRAUS 2 A 4) CONFORME A "INTENÇÃO DE TRATAR" (ANÁLISE DE TODOS OS PACIENTES RANDOMIZADOS)* – PORTO ALEGRE, 2000.

Grupo	Número de		
	Eventos de ERI grave	Pacientes-Semana	Incidência por 100 pacientes-semana
Vitamina E	36	167	21,6
Placebo	54	161	33,5

*RR=0,643, IC95%= 0,42-0,98, p= 0,038.

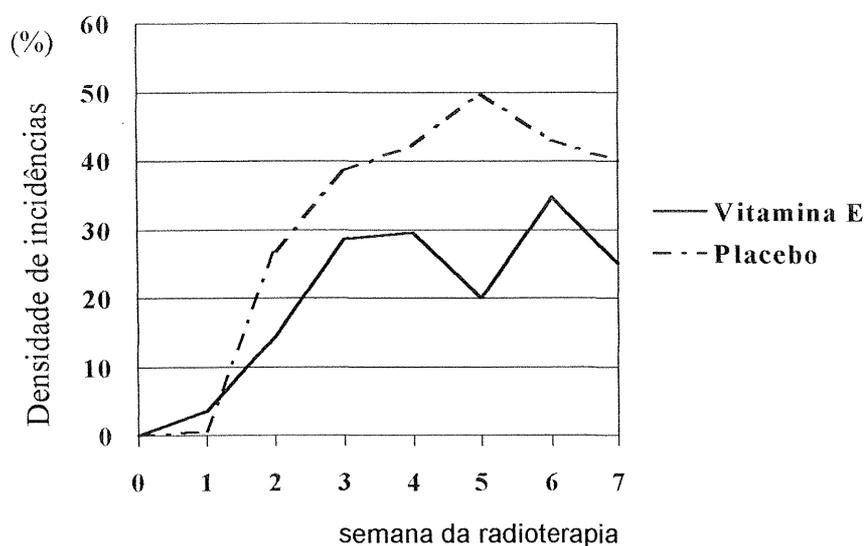


Figura 13: Densidade de incidências de ERI grave de acordo com a semana e o grupo de tratamento.

Embora a duração mediana da ERI grave nos pacientes do grupo da vitamina E tenha sido de 1 semana (mínimo= 0 e máximo=5,0), e de 2 semanas (mínimo=0 máximo=5,0) nos pacientes do grupo placebo, a diferença não foi expressiva ($p=0,102$).

O peso médio dos pacientes na véspera do início da radioterapia (grupo vitamina E: 60,4 kg, DP= 10,4; grupo placebo: 66,2 kg, DP= 14,0) foi comparado ao peso médio verificado durante a radioterapia (grupo vitamina E: 55,5 kg, DP= 20,8; grupo placebo: 60,7 kg, DP=22,1) ($p=0,972$). Dez dentre os 54 pacientes do estudo (18,5%) apresentaram um aumento do peso neste mesmo período.

FREQÜÊNCIA DE CÉLULAS MICRONUCLEADAS

Na contagem de micronúcleos foram rejeitadas 15 dentre 167 lâminas (9%) de pacientes do grupo da vitamina E e 25/161 (15,5%) lâminas de pacientes do grupo placebo por apresentarem menos de 1000 células viáveis. O número mediano de micronúcleos para cada 1000 células viáveis foi de 3,6 (mínimo= 1,4 e máximo= 8,5) para o grupo da vitamina E e de 3,2 (mínimo= 0,5 e máximo= 6,7) para o grupo placebo ($p=0,249$).

VIOLAÇÃO PROTOCOLAR

Três pacientes do grupo vitamina E não completaram a dose mínima de 50 Gy devido a ERI grave (2 casos) e óbito atribuível à progressão do tumor (1 caso), e configuraram violações do protocolo. As respectivas perdas ponderais percentuais destes pacientes, verificadas na última sessão de radioterapia, foram de 6,3%, 10,2% e 1,1%. Não foram observadas outras violações protocolares. Uma análise paralela “por-protocolo” (sem a presença destes três pacientes pertencentes ao grupo da vitamina E) foi elaborada com a finalidade de esclarecer se estas violações causaram impacto na incidência de ERI grave (tabela 14). Houve uma diminuição ainda maior na incidência de ERI grave no grupo da vitamina E em comparação à obtida pela análise do tipo “intenção de tratar”. Seriam

necessárias 5,7 unidades de pacientes-semana no grupo da vitamina E para evitar 1 evento ($p=0,002$).

TABELA 14 - DENSIDADE DE INCIDÊNCIAS DE ERI GRAVE (GRAUS 2 A 4) CONFORME ANÁLISE “POR-PROTOCOLO” (EXCLUSÃO DOS PACIENTES QUE VIOLARAM O PROTOCOLO)* – PORTO ALEGRE, 2000

Grupo	Número de		
	Eventos de ERI grave	Pacientes-Semana	Incidência por 100 pacientes-semana
Vitamina E	25	156	16,0
Placebo	54	161	33,5

*RR= 0,48, IC95%= 0,30-0,76, $p= 0,002$

TOXICIDADE

Cerca de dois terços dos pacientes em cada braço do estudo apresentaram efeitos colaterais detectáveis (tabela 15). Náusea de curta duração foi o efeito colateral mais comum. As frequências dos efeitos colaterais nos dois grupos de tratamento não foram significativamente diferentes ($p=0,216$).

TABELA 15 - FREQUÊNCIA DE COMPLICAÇÕES DE ACORDO
COM O GRUPO DE TRATAMENTO* – PORTO
ALEGRE, 2000

Complicação	Grupo de tratamento*			
	Vitamina E		Placebo	
	28 pacientes (%)		26 pacientes (%)	
Nenhuma	10	35,7	9	34,6
Náusea	12	42,8	10	38,5
Vômitos	4	14,3	5	19,2
Febre	4	14,3	1	3,8
Monilíase	2	7,1	4	15,4
Sangramento	2	7,1	9	34,6

p=0,216.

*Alguns pacientes manifestaram mais de uma complicação simultaneamente.

VII DISCUSSÃO

A pesquisa com agentes radioprotetores tem sido intensa nas duas últimas décadas, mas não há, até o momento, dados convincentes e de significância farmacológico-clínica suficiente para torná-los recomendados como parte do tratamento dos tumores de cabeça e pescoço [Loprinzi et al, 2000]. Alguns trabalhos mostraram resultados promissores na prevenção e tratamento da ERI; entretanto, conclusões definitivas sobre a eficácia, complexidade de uso e segurança destes agentes ainda são prematuras [Berger, 1997]. Symonds [1998] observou que não há um tratamento amplamente aceito para aliviar ou prevenir a estomatite induzida por rádio ou quimioterapia. Feber [1996] comenta que são poucos os protocolos disponíveis e atualizados, além do fato de a literatura sobre tratamentos tópicos orais ser inconclusiva e confusa. Estes autores reconhecem que, por enquanto, as medidas gerais de prevenção da ERI continuam sendo uma opção segura e indispensável. Porém, até onde sabemos, não há outros estudos similares ao nosso testando a capacidade radioprotetora da vitamina E, como droga única e em altas doses, em pacientes selecionados com tumores de cabeça e pescoço tratados com radioterapia exclusiva. A ERI de graus 2 a 4 foi por nós classificada como grave por estar mais associada à piora da qualidade de vida, e por esta razão foi adotada como principal parâmetro de avaliação do efeito da vitamina E. Lesões deste tipo determinam um aumento da intensidade da dor, da necessidade de analgesia, da dificuldade para deglutição, da perda ponderal e do risco de evolução para outras complicações mais sérias do que a ERI de grau 1. De acordo com nossos resultados, a vitamina E foi capaz de, significativamente, reduzir a frequência de ERI grave. A ocorrência de eventos de estomatite graus 2 a 4 no grupo experimental foi cerca de 64% daquela observada no grupo placebo, o que significa dizer que a vitamina E reduziu em 36% o risco de surgimento de ERI grave. Por outro lado, como as diferenças de duração da ERI grave e perda ponderal foram inferiores às diferenças mínimas detectáveis pelo tamanho amostral, julgamos que nosso estudo não teve poder estatístico suficiente para,

conclusivamente, definir se a vitamina E foi ou não capaz de influenciar significativamente estes fatores.

A frequência de células micronucleadas consistiu num fenômeno raro em nossa série (cerca de 0,3% em cada 1000 células), e que não foi afetado pela vitamina E. Entretanto, como a diferença entre os números medianos de células micronucleadas foi menor do que a diferença mínima detectável pelo tamanho amostral, entendemos que nosso estudo também não teve poder estatístico suficiente para definir se a vitamina E foi capaz de, significativamente, influir neste fator. Por esta razão, não podemos definir se a análise quantitativa de micronúcleos é ou não um marcador apropriado para o efeito radioprotetor da vitamina E.

A forma escolhida para a administração da vitamina E (enxágüe da cavidade oral com 400 mg durante 5 minutos com posterior deglutição, duas vezes ao dia) pareceu-nos a mais adequada porque propiciou um contato prolongado do medicamento com a mucosa oral imediatamente antes da irradiação. Esta abordagem baseou-se em alguns estudos farmacocinéticos e clínicos. Lopez *et al.* [1994] encontraram uma concentração plasmática de vitamina E inesperadamente menor no grupo experimental do que no grupo placebo, sugerindo que, pelo menos nos seus pacientes, o efeito protetor seria predominantemente local devido a uma reduzida absorção intestinal. Este índice seria de 20 a 40% da dose ingerida [MacMahon *et al.*, 1970]. Como agente protetor experimental, a vitamina E foi usada topicamente em algumas séries nas doses totais de 200 a 800 mg ao dia, em uma ou mais tomadas [Osaki *et al.*, 1994; Lopez *et al.*, 1994 e Wadleigh *et al.*, 1992].

De acordo com Fletcher *et al.*, [1996], o placebo ideal deve ser idêntico na aparência física, cor, odor e sabor ao tratamento ativo, mas sem um mecanismo de ação específico conhecido. Ao pesquisarmos os candidatos a placebo – disponíveis no mercado local e enquadrados no orçamento do estudo – avaliamos estas características em várias substâncias assemelhadas à cápsula da vitamina E, conhecidas popularmente como “fitoterápicos”. A substância escolhida, o óleo de prímula, preencheu todas as condições acima, exceto pelo fato de conter 2,5% de vitamina E em sua composição, com finalidade

conservante. Entretanto, esta concentração pode ser considerada aceitável para as finalidades deste estudo, pois corresponde a apenas 3,1% da dose de vitamina E contida na medicação ativa. A presença de traços de vitamina E no placebo tem ocorrido em estudos semelhantes. Wadleigh *et al.* [1992] utilizaram uma solução de óleo de amendoim e soja como placebo contendo cerca de 1 mg de vitamina E por mililitro. As propriedades farmacológicas do óleo de primula não estão bem estabelecidas. Nos últimos quinze anos, vários estudos clínicos randomizados, duplo-cegos e com tamanho amostral razoável não foram capazes de detectar efeitos significativos do óleo de primula em diversas patologias, dentre eles, os de Haslett *et al.* [1983] no tratamento da obesidade, Oxholm *et al.* [1986] na síndrome de Sjögren, Ebden *et al.* [1989] na asma brônquica, Van de Merwe *et al.* [1990] no hepatoma, Oliwiecki *et al.* [1994] na psoríase, Greenfield *et al.* [1993] na colite ulcerativa, Whitaker *et al.* [1996] na dermatite crônica das mãos, Hederos *et al.* [1996] na dermatite atópica e asma brônquica e, em estudos não-randomizados, Jantti *et al.* [1989] na artrite reumatóide e Ucella *et al.* [1989] no risco cardiovascular de diabéticos. Por outro lado, um ensaio clínico fase III de Schalin-Karrila *et al.* [1987] e um estudo não controlado de Bordoni *et al.* [1988] observaram melhora significativa no eczema atópico. Não encontramos referências na literatura sobre efeitos colaterais relacionados ao óleo de primula [Teske *et al.*, 1994].

A possibilidade de um agente radioprotetor estender este efeito também ao tumor deve ser considerada em pesquisas como esta. A forma mais apropriada de controlar esta variável é pela análise da sobrevida ou, melhor ainda para estudos de curta duração, da sobrevida livre de doença. Embora nosso estudo tivesse sido desenhado para contemplar o intervalo livre de doença, razões socioeconômicas impediram que mais de 70% dos pacientes comparecessem às revisões programadas após a conclusão da radioterapia. Por outro lado, consideramos confiáveis as informações obtidas com relação à sobrevida absoluta. A probabilidade de um paciente estar vivo aos 24 meses foi maior nos pacientes do grupo placebo do que naqueles do grupo da vitamina E, mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Este fato pode ser explicado pela tendência dos pacientes com estádios mais avançados (III e IV) predominarem no grupo

da vitamina E, embora a diferença de freqüências não tenha sido significativa. Quando estratificamos apenas os pacientes com tumores nos estádios III e IV em ambos os grupos e comparamos as sobrevidas, as diferenças foram menores e continuaram não significativas. Por esta razão, não cremos que a vitamina E tenha exercido impacto na curabilidade dos pacientes. Embora não tenha sido possível estimar a sobrevida específica para cada sítio de tumor primário devido ao pequeno número de pacientes em alguns extratos, uma comparação com algumas séries internacionais revela que nossos resultados nos estádios III e, principalmente no IV, são semelhantes (tabela 5).

Dentre os possíveis efeitos colaterais dose-dependentes da vitamina E descritos na literatura, náusea e sangramento são os mais presumíveis. Em nosso estudo, náusea foi o sintoma mais comum nos pacientes do grupo da vitamina E, embora tenha sido o mais freqüente também no grupo placebo. Até onde este efeito colateral pode ter sido provocado também pela alteração de paladar induzida pela radioterapia não ficou claro neste estudo. A necessidade de utilização de medicação antiemética foi mínima. Vômitos e sangramento na área do tumor primário foram sintomas mais freqüentes no grupo placebo, mas as diferenças não foram significativas. Estes dados sugerem que a vitamina E não parece ter apresentado toxicidade relevante.

Os três pacientes do grupo da vitamina E que abandonaram o tratamento foram mantidos na amostra obedecendo à recomendação de Altman, D [1991a], segundo a qual é importante utilizar todos os dados disponíveis, especificar quais os dados faltantes e manter todos os pacientes randomizados no estudo, visando evitar decisões subjetivas no momento de lidar com as violações protocolares. Estes pacientes eram portadores de tumores localmente avançados (estádio IV). Dois deles encontravam-se desnutridos pela doença (perdas ponderais percentuais de 6,3% e de 10,2%), o que poderia explicar, nesta situação particular, a pouca proteção das mucosas proporcionada pela vitamina E. Dentre estes pacientes, o único vivo ao término do estudo foi o que apresentou menor perda ponderal percentual (1,1%). Devido ao baixo risco de efeitos colaterais graves atribuído à vitamina E nas doses utilizadas, não acreditamos que a sua toxicidade tenha interferido nesses resultados.

Para o futuro, a aparente redução do risco de ERI grave pela vitamina E apontada por este trabalho suscita novas indagações, tais como: 1) Qual a dose e a frequência de administração mais eficazes? 2) Podem doses tóxicas maiores (por exemplo 800 mg) administradas uma única vez ao dia, imediatamente antes da sessão da radioterapia, serem mais eficazes do que a mesma dose fracionada em duas tomadas diárias? 3) Haveria um efeito sinérgico no emprego de vitamina C ou de outras drogas potencialmente radioprotetoras e com diferentes mecanismos de ação? Tencionamos prosseguir nesta mesma linha de pesquisa para encontrar respostas a estas perguntas.

VIII CONCLUSÕES

Os pacientes tratados com vitamina E tiveram uma redução na intensidade da ERI, pois apresentaram menor frequência de lesões graus 2 a 4 do que os pacientes do grupo placebo. Nosso estudo não teve poder estatístico suficiente para avaliar, conclusivamente, as diferenças na duração da ERI grave, perda ponderal e frequência de células micronucleadas.

A vitamina E foi administrada de modo simples, seus efeitos colaterais foram de baixa toxicidade e não interferiram na sobrevida. Consideramos a vitamina E uma droga potencialmente eficaz na proteção das membranas mucosas de pacientes portadores de tumores da cavidade oral, faringe e primitivos desconhecidos com metástases cervicais tratados com radioterapia exclusiva. Entretanto, devido ao pequeno tamanho amostral do nosso estudo, o efeito radioprotetor da vitamina E não pode ser considerado definitivamente mensurado. Novas pesquisas são necessárias para confirmar e ampliar nossos achados.

XI. ANEXO

CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

EpiInfo Version 6		Statcalc		November 1993				
Unmatched Cohort and Cross-Sectional Studies (Exposed and Nonexposed)							Sample Sizes for 20.00 % Disease in Unexposed Group	
Conf.	Power	Unexp:Exp	Disease in Exposed	Risk Ratio	Odds Ratio	Sample Size		Total
						Unexp.	Exposed	
95.00 %	80.00 %	1:1	35.00 %	1.75	2.15	151	151	302
90.00 %	"	"				121	121	242
95.00 %	"	"				151	151	302
99.00 %	"	"				219	219	438
99.90 %	"	"				314	314	628
95.00 %	80.00 %	"				151	151	302
"	90.00 %	"				197	197	394
"	95.00 %	"				240	240	480
"	99.00 %	"				334	334	668
"	80.00 %	4:1				360	90	450
"	"	3:1				291	97	388
"	"	2:1				222	111	333
"	"	1:2				115	230	345
"	"	1:3				103	309	412
"	"	1:4				97	388	485

Baseado no método
descrito por Fleiss [1981].

XII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELAAL A.; BARKER D.; FERGUSSON M. Treatment for irradiation-induced mucositis. **Lancet**, 1:97-102, 1987.
- ADAMIETZ I.; RAHN R.; BÖTTCHER H.; SCHÄFER V.; REIMER K.; FLEISCHER W. Prevention of radiochemotherapy-induced mucositis: Value of the prophylactic mouth rinsing with PVP-iodine solution. **Strahlenther Onkol.**, 174:149-155, 1998.
- ALTMAN D.: Clinical trials. In: **Practical statistics for medical research**. London: Chapman & Hall; 1991a. p. 440-476.
- ALTMAN D.: Comparing groups: continuous data. In: **Practical statistics for medical research**. London, Chapman & Hall; 1991b. p. 194.
- ALTMAN K.I.: Radiation chemistry. In: DALRYMPLE G.V., GAULDEN M.E., KOLLMORGEN G.M., VOGEL H.H. (edit): **Medical radiation biology**. Toronto, W.B. Saunders Company; 1973. p.15-29.
- AMDUR R.J.; PARSONS J.T; MENDENHALL W.M.; MILLION R.R.; CASSISI N.J. Split course versus continuous irradiation in the post-operative setting for squamous carcinoma of the head and neck. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, 17: 279-285, 1989.
- AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION. **Vitamins and minerals. Drug evaluations. Annual 1995**. Philadelphia. American Medical Association; 1995. p. 2283-2305.
- ANON M.B. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. **N. Engl. J. Med.**, 330: 1029-1035, 1994.
- ANON M.B. Vitamin K, vitamin E and the coumarin drugs. **Nutr. Refv.**, 40: 180-183, 1982.
- BARKER G.; LOFTUS L.; CUDDY P.; BARKER B. The effects of sucralfate suspension and diphenhydramine syrup plus kaolin-pectin on radiotherapy-induced mucositis. **Oral Surg. Oral Méd. Oral Pathol.**, 71: 288-293, 1991.
- BARON R.B. Nutrição. In: TIERNEY J.R.; MCPHEE S.J.; PAPADAKIS M.A. (ed.). **Diagnóstico e tratamento**. São Paulo, Atheneu Editora, 1998. p. 1081-1110.

- BAZZANO C.; DE ANGELES S.; KLEIST G. Allergic contact dermatitis from topical vitamins A and E. **Contact Dermatitis**, 35: 251-262, 1996.
- BELIËN J.Á.; COPPER M.P.; BRAAKHUIS B.J.; SNOW G.B.; BAAK J.P. Standardization of counting micronuclei. Definition of a protocol to measure genotoxic damage in human exfoliated cells. **Carcinogenesis**, 16: 2395-2400, 1995.
- BELKA C.; HOFFMANN W.; PAULSEN F.; BARNBERG M. The use of sucralfate in radiation oncology. **Strahlenter Onkol.**, 173: 247-252, 1997 (abst).
- BENNER S.E.; LIPPMAN S.M.; WARGOVICH M.J.; LEE J.J.; VELASCO M.; MARTIN J.W. *et al.* Micronuclei, a biomarker for chemoprevention trials. Results of a randomized study in oral pre-malignancy. **Int. J. Cancer**. 59: 457-459, 1994.
- BENNER S.E.; WIN R.J.; LIPPMAN S.M. Regression of oral leukoplakia with alpha-tocopherol: a community clinical oncology program chemoprevention study. **J. Natl. Cancer. Inst.**, 85: 44-4, 1993.
- BERGER A.; EDERSON M.; MADDOOLMAN W.; DUFFY V.; COOPER D.; SABERSKI L.; BARTOSHUK L. Oral capsaicin provides temporary relief for oral mucositis pain secondary to chemotherapy/radiation therapy. **J. Pain Symptom Manage.**, 10: 243-248, 1995.
- BERGER A.; KILROY T. Oral complications. In: DE VITA VT, HELLMAN S, ROSENBERG SA, eds. **Cancer. Principles and practice of Oncology**. 5.ed. Philadelphia, JB Lippincott, 1997. p. 2714-2725.
- BORDONI A., BIAGI P.L., MASI M., RICCI G., FANELLI C., CECCOLINI E. Evening primrose oil (Efamol) in the treatment of children with atopic eczema. **Exp. Clin. Res.**, 14: 291-297, 1988.
- BROCK W.A. Kinetics of micronucleus expression in synchronized irradiated Chinese hamster ovary cells. **Cell Tissue Kinet.**, 18: 247-252, 1985.
- BROOKS A.; NEWTON G.; SHYR L.; SEILER F.A.; SCOTT B.R. The combined effects of alpha-particles and X-rays on cell killing and micronuclei induction in lung epithelial cells. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, 58: 799-811, 1990.

- BÜNTZEL J.; KÜTTNER K.; FRÖHLICH D.; GLATZEL M. Selective radioprotection with amifostine in concurrent radiochemotherapy for head and neck cancer. **Annals Oncol.**, 9: 505-509, 1998.
- BURTON G.W.; LE PAGE Y.; GABE E.J. Antioxidant activity of vitamin E and related phenols. Importance of stereoelectronic factors. **J. Am. Chem. Soc.**, 102: 7791-7792, 1980.
- BUSSOLINO F.; WANG J.M.; DEFILIPPI P.; TURRINI F.; SANAVIO F.; EDGELL C.S. *et al.*. Granulocyte and granulocyte-macrophage colony stimulating factors induce human endothelial cells to migrate and proliferate. **Nature**, 337: 471-473, 1989.
- BYERS R.M.; ANDERSON B.; SCHWARZ E.A. ; FIELDS R.S. ; MEOZ R. Treatment of squamous carcinoma of the retromolar trigone. **Am. J. Clin. Oncol.**, 7: 647-52, 1984.
- CASTRO A.L.; CASTRO A.L.; MORAES N.P.; FURUSE T.A. Lesões nodulares e vegetantes. In: **Estomatologia**. CASTRO A.L. (ed). São Paulo, Livraria Santos Ed., 1992. p. 77.
- CHI K.; CHEN C.; CHAN W.; CHOW K.; CHEN S.; YEN S. *et al.*. Effect of granulocyte-macrophage colony stimulating factor on oral mucositis in head and neck cancer patients after cisplatin. **J. Clin. Oncol.**, 13: 2620-2628, 1995.
- COHEN M.M.; CLARK L. Preventing acetylsalicylic acid damage to human gastric mucosa by the use of prostaglandin E2. **Can. J. Surg.**, 26: 11-120, 1983.
- COLBURN W.A.; EHRENKRANZ R.A.; Pharmacokinetics of a single intramuscular injection of vitamin E to premature neonates. **Pediatr. Pharmacol.**; 3: 7-14, 1983.
- COUNTRYMAN P.I.; HEDDLE J.Á.; The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. **Mutat. Res.**, 41: 321-332, 1976.
- COX D.R. Regression models and life tables. **J. R. Stat. Soc.**, 34: 187-220, 1972.
- COX J.D.; STETZ J.; PAJAK T.F.; Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, 31: 1341-1346, 1995.

- DAUDT A.W. **Estudo de micronúcleos em células da cavidade oral como marcadores do dano citogenético**. Porto Alegre, 1992. Dissertação (Mestrado). Curso de Pós-graduação em Medicina. Pneumologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- DEAN A.; DEAN J.; COULOMBIER D.; BRENDEL K.A.; SMITH D.C.; BURTON A.H.; *et al.*. **Epi Info 6.04b – A word-processing, database, and statistics program for public health on IBM compatible microcomputers**. Centers for Disease Control & Prevention. Atlanta, Georgia, USA. Jan 1997.
- DELANEY J.P.; BONSAK M.; HALL P. Intestinal radioprotection by two new agents applied topically. **Ann. Surg.**, 216: 417-421, 1992.
- DEVI P.U. Normal tissue protection in cancer therapy. **Acta Oncologica**, 37: 247-252, 1998.
- DINARELLO C.A. Interleukin 1 and interleukin antagonism. **Blood**, 77: 1627-1652, 1991.
- EBDEN O., BEVAN C., BANKS J., FENNERTY A., WALTERS E.H. A study of evening primrose seed oil in atopic asthma. **Leukot. Essent. Fatty Acids**, 35: 69-72, 1989 (abst).
- ELKIND M.M.; WHITMORE G.F. **The radiobiology of cultured mammalian cells**. New York, Gordon & Breach, 1967.
- EMAMI B. Oral cavity. In: PEREZ C.A; BRADY L. (ed.). **Principles and practice of Radiation Oncology**. 3.ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, 1997. p. 981-1002.
- EMPEY L.R.; PAPP J.D.; JEWELL L.D.; FEDORAK R.N. Mucosal protective effects of vitamin E and misoprostol during acute radiation-induced enteritis in rats. **Dig. Dis. Sci.**; 37: 205-214, 1992.
- EPSTEIN J.; STEVENSON-MOORE P.; JACKSON S.; MOHAMED J.H.; SPINNELLI J.J. Prevention of oral mucositis in radiation therapy: a controlled study with benzydamine hydrochloride rinse. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.** 16: 1571-1575, 1989.
- EPSTEIN J.B.; VICKARS L.; SPINELLI J.; REECE D. Efficacy of chlorhexidine and nistatine rinses in prevention of oral complications in leukemia and bone marrow transplantation. **Oral Surg. Oral. Med. Oral. Pathol.** 73: 682-689, 1992.

- EPSTEIN J.B.; WONG F.L. The efficacy of sucralfate suspension in the prevention of oral mucositis due to radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 28: 693-698, 1994.
- ERIKSSON G.; JOHANSSON C.; ALY C. TROPICAL A. Prostaglandin E₂ for chronic leg ulcer. *Lancet*; 1: 905-909, 1986.
- EVANS H.M.; BISHOP K.S. On the relationship between fertility and nutrition II. The ovulation rhythm in the rat on inadequate nutritional regimes. *J. Metab. Res.*, 1: 319-356, 1922.
- FEBER T. Management of mucositis in oral irradiation. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)*, 8: 106-111, 1996.
- FELEMOVICIUS I.; BONSAK M.E.; BAPTISTA M.L.; DELANEY J.P. Intestinal radioprotection by vitamin E (alpha tocopherol). *Ann. Surg.*, 222: 504-508, 1995.
- FERREIRA P.R. Utilização de sucralfato para a prevenção de mucosite na radioterapia dos tumores da cabeça e pescoço: um estudo randomizado. *Radiol. Bras.* 26: 71-80, 1993.
- FILARDO T.W. Confusion about effects and side effects of vitamin E. *N. Eng. J. Med.*; 305: 961-963, 1981.
- FLAM S. Radicais livres. In: OLSZEWER E.; FLAM S.; ELLOWITCH S. (ed.). **Radicaís livres em cardiologia** - Isquemia e reperfusão. São Paulo, Tecnopress, 1997. p. 11-37.
- FLEISS J.L. **Statistical methods for rates and proportions**. 2.ed. New York, Wiley, 1981. p. 38-45.
- FLETCHER R.; FLETCHER S.; WAGNER E. Tratamento. In: **Epidemiologia clínica, elementos essenciais**. 3.ed. Porto Alegre. Artes Médicas, 1996. p. 145-173.
- FOOTE R.L.; LOPRINZI C.L.; FRANK R.; O'FALLON J.R.; GULAVITA S.; TEWFIK H.H. *et al.*. Randomized trial of a chlorhexidine mouthwash for the alleviation of radiation induced mucositis. *J. Clin. Oncol.* 12: 2630, 2633, 1994.
- FRANZÉN L.; HENRIKSSON R.; LITTBRAND B.; ZACKRISSON B. Effects of sucralfate on

- mucositis during and following radiotherapy of malignancies in the head and neck region. A double-blind placebo-controlled study. **Acta Oncol.**, 34: 2, 219-223, 1995.
- FRIDOVICH I. The biology of oxygen radicals. **Science**, 201: 875-879, 1978.
- FULLER C.J.; CHANDALIA M.; GARG A.; GRUNDY S.M.; JIALAL I. RRR-alpha-tocopheryl acetate supplementation at pharmacologic doses decreases low-density-lipoprotein oxidative susceptibility but not protein glycation in patients with diabetes mellitus. **Am. J. Clin. Nutr.**, 63: 753-759, 1996.
- GABRILOVE J.L.; JAKUBOSWIKI A.; SCHER H.; STERNBERG C.; WONG G.; GROUS J. *et al.* Effect of granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia and associated morbidity due to chemotherapy for transitional-cell carcinoma of the urothelium. **N. Engl. J. Med.**, 318: 1414-1422, 1988.
- GILMAN A.G.; GOODMAN L.S.; RALL T.W. Liposoluble Vitamins. In: **The pharmacological basis of therapeutics**. GOODMAN & GILMAN (ed.). 7. ed. New York, Mcmillan Publishing Co, 1985. p. 1058-1070.
- GOMES R.A.; LEITÃO A.C. **Radiobiologia e fotobiologia**. Rio de Janeiro, Gráfica da UFRJ, Instituto de Biofísica, 1986.
- GOUYETTE A.; DENIEL A.; PICO J.L.; DROZ J.P.; BAUME D.; OSTRONOFF M. Clinical pharmacology of high dose etoposide associates with cisplatin. pharmacokinetic and metabolic studies. **Eur. J. Cancer Clin. Oncol.**, 23: 1627-1632, 1987.
- GREENFIELD S.M., GREEN A.T., TEARE J.P., JENKINS A.P., PUNCHARD N.A., AINLEY C.C. A randomized controlled study of evening primrose oil and fish oil in ulcerative colitis. **Pharmacol. Ther.**, 7: 159-166, 1993.
- HASLETT C., DOUGLAS J.G., CHALMERS S.R., WEIGHILL A., MUNRO J.F. A double-blind evaluation of evening primrose oil as an antiobesity agent. **Int. J. Obes.**, 7:549-553, 1983.
- HATTON-SMITH C.K. A last bastion of ritualized practice? A review of nurses knowledge of oral healthcare. **Prof. Nurse.**, 9: 304-308, 1994.
- HEDEROS C.A., BERG A. Epogram evening primrose oil treatment in atopic dermatitis and

- asthma. **Dis. Child.**, 75: 494-497, 1996.
- HELLMAN S. Principles of Radiation Therapy. In: DE VITA VT, HELLMAN S, ROSENBERG SA, ed. **Cancer. Principles and practice of Oncology**. 4.ed. Philadelphia, JB Lippincott, 1993. p. 255.
- HOLMES S. The oral complications of specific anticancer therapies. **Int. J. Nurs. Stud.**, 28: 343-360, 1991.
- HORWITT M.K. Therapeutic uses of vitamin E in medicine. **Nutr. Rev.**; 38: 105-113, 1980.
- HUNTER D.J.; MANSON J.E.; COLDITZ G.A.; STAMPFER M.J.; ROSNER B.; HENNEKENS C.H. A prospective study of the intake of vitamins C, E and A and the risk of breast cancer. **N. Engl. J. Med.**, 329: 234-240, 1993.
- JANTII J., SEPPALA E., VAPAATALO H., ISOMAKI H. Evening primrose oil and olive oil in treatment of rheumatoid arthritis. **Reumathol.**, 8:238-244, 1989.
- JOHNSON L.; BOWEN F.V.; ABASSI S.; HERMANN M.; SACKS L. Relationship of prolonged pharmacologic serum levels of vitamin E to incidence of sepsis and necrotizing enterocolitis in infants with birth weight 1500 grams or less. **Pediatrics**, 75: 619-638, 1985.
- JUNQUEIRA L.; CARNEIRO J. A célula. In: **Histologia básica**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan; 1974. p. 33.
- JUNQUEIRA L.; CARNEIRO J. Citoquímica. In: **Biologia celular e molecular**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan; 1997. p. 28.
- KAGAN V.; SERBINOVA E.; PACKER L. Antioxidant effects of ubiquinones in microsomes and mitochondria are mediated by tocopherol recycling. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 169: 851-857, 1990.
- KANNAN V.; BAPSY P.P.; ANANTHA N.; VAITHIANATHAN H.; BANUMATHY G.; REDDY K.B. Efficacy and safety of granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) on the frequency and severity of radiation mucositis in patients with head and neck carcinoma. **Int. J. Radiat. Biol. Phys.**; 37: 1005-1010, 1997.
- KAPLAN G.; MEIER P. Non-parametric estimation from incomplete observations. **J. Am.**

- Stat.**, 53: 457-481, 1958.
- KELLETT M. Oral white plaques in uraemic patients. **Brit. Dent.**, 154: 366-368, 1983.
- KLIGERMAN M.M.; GLOVER D.J.; TURRISI A.T.; NORFLEET A.L.; YUHAS J.M.; COIA L.R. Toxicity of WR-2721 administered in single and multiple doses. **Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.**, 10: 1773-1776, 1984.
- LEBORGNE J.H.; LEBORGNE F.; ZUBIZARRETA E.; ORTEGA B.; MEZZERA J. Corticosteroids and radiation mucositis in head and neck cancer. A double-blind placebo controlled randomized trial. **Radiother. Oncol.**, 47: 145-148, 1998.
- LEMONS J.A.; MAISELS M.J. Vitamin E: how much is too much? **Pediatrics**, 76: 625-627, 1985.
- LICHTER A.S.; LAWRENCE T. Recent advances in radiation oncology. **N. Engl. J. Med.**, 332: 371-379, 1995.
- LIEVENS Y.; HAUSTEMANS K.; VAN DEN WEYNGAERT D.; VAN DEN BOGAERT W.; SCALLIET P.; HUTSEBAULT L. *et al.*. Does sucralfate reduce the acute side effects in head and neck cancer treated with radiotherapy? A double-blind randomized trial. **Radiother. Oncol.**, 47: 149-153, 1998.
- LOOMIS D.; SHY C.; ALLEN J.; SACCOMANNO G. Micronuclei in epithelial cells from sputum of uranium workers. **Scand. J. Work. Environ. Health.**, 16: 355-362, 1990.
- LOPEZ I.; GOUDOU C.; RIBRAG V.; SAUVAGE C.; HAZEBROUCQ G.; DREYFUS F. Traitement des mucines par la vitamine E lors de l'administration d'anti-neoplastiques neutropénisants. **Ann. Med. Interne**, 145: 405-408, 1994.
- LOPRINZI C.L.; GASTINEAU D.A.; FOOTE R.L. Oral complications. In: ABELOFF M., ARMITAGE J.O.; LICHTER A.S.; NIEDERHUBER J.E.; (ed.) . **Clinical Oncology**. 2.ed. New York. Churchill Livingstone; 2000. p. 965-979.
- MACIEJEWSKI B.; ZAJUSZ A.; PITECKI B.; SKLADOWSKI Z.; DORR W.; MERMEHR J. *et al.*. Escalated hyperfractionation and stimulation of acute mucosal in radiotherapy for cancer of the oral cavity and oropharynx. **Semin. Radiat. Oncol.** 2: 54-57, 1992.
- MACMAHON M.T.; NEALE E. The absorption of α -tocopherol in control subjects and in

- patients with intestinal malabsorption. **Cli. Sci.**, 38: 197-210, 1970.
- MAKKONEN T.A.; BÖSTROM P.; VILJA P.; JOENSUU H. Sucralfate mouth washing in the prevention of radiation-induced mucositis: a placebo-controlled double-blind randomized study. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, 30: 177-182, 1994.
- MARCUS R, COULSTON AM. Fat -soluble vitamins. Vitamins A, K and E. In: HARDMAN J.G.; LIMBIRD L.E.; MOLINOFF P.B.; RUDDON R.W.; GILMAN A.G. (ed.). **Goodman&Gilman's The pharmacological basis of therapeutics**. 9.ed. New York, McGraw-Hill, 1996. p. 573-590.
- MARCUS R.; COULSTON A. Vitaminas lipossolúveis. In: **As bases farmacológicas da terapêutica**. GOODMAN E GILMAN (ed.). 8.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991. p. 1033-1045.
- MATEJKA M.; NELL A.; KMENT G.; SCHEIN A.; LEUKAUF M.; PORTEDER H. *et al.*. Local benefit of prostaglandin E2 in radiochemotherapy-induced oral mucositis. **Br. J. Oral Maxillofac. Surg.**, 28: 89-94, 1990.
- MEYERS D.G.; MALONEY P.A.; WEEKS D. Safety of antioxidant vitamins. **Arch. Intern. Méd.**, 156: 925-935, 1996.
- MICHAELS H.B.; HUNT J.W. A model for radiation damage in cells by direct effect and by indirect effect: a radiation chemistry approach. **Radiat. Res.**, 74: 23-34, 1978.
- MIKEL U.V.; FISHBEIN W.N.; BAHR G.F. Some practical considerations in quantitative absorbance microspectrophotometry. Preparation techniques in DNA cytophotometry. **Anal. Quant. Cytol. Histol.**, 7: 107-118, 1985.
- MILLION R.R.; CASSISI N.J. The unknown primary. In MILLION RR, CASSISI NJ (ed.). **Management of head and neck cancer. A multidisciplinary approach**. 1. ed. Philadelphia, Lippincott; 1984. p. 231-238.
- MILLION R.R.; CASSISI N.J.; WITTES R.E. Cancer in the head and neck. In: DE VITA VT, HELLMAN S, ROSENBERG SA (ed.). **Cancer. Principles and practice of Oncology**. 1. ed. Philadelphia, JB Lippincott, 1982. p. 301-395.
- MILLS E.E. The modifying effect of beta-carotene on radiation and chemotherapy induced

- oral mucositis. **Br. J. Cancer.**, 57: 416-42, 1988.
- MOORE L.E.; WARNER M.L.; SMITH A.H.; KALMAN D.; SMITH M.T. Use of fluorescent micronucleus assay to detect the genotoxic effects of radiation and arsenic exposure in exfoliated human epithelial cells. **Environ. Mol. Mutagen.**, 27: 176-184, 1996.
- MOREIRA L.B.; FUCHS F.D. Vitaminas. In: FUCHS FD, WANNMACHER L (ed.). **Farmacologia clínica. Fundamentos da terapêutica racional.** 2.ed. Porto Alegre, Artes Médicas; 1998. p. 595-601.
- MURAD A.M. Tratamento da mucosite induzida por quimioterapia. **Compacta Oncológica**, 2: 11-13, 1995.
- NARRA V.R; HARPANHALLI R.S.; HOWELL R.W.; SASTRI K.R.; RAO D.V. Vitamins as radioprotectants in vivo. I. Protection by vitamin C against internal radionuclides in mouse testes: implications to the mechanisms of the Auger effect. **Radiat. Res.**, 137: 394-399, 1994.
- NIH CONSENSUS STATEMENT ONLINE - 1989 April 17-19. **Oral complications of cancer therapy. Diagnosis, prevention and treatment.** National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement, 7: 1-11, 1989.
- OKUNO S.H.; FOOTE R.L.; LOPRINZI C.L.; GULAVITA S.; SLOAN J.A.; EARLE J. *et al.* A randomized trial of nonabsorbable antibiotic lozenge given to alleviate radiation-induced mucositis. **Cancer**, 79: 2193-2199, 1997.
- OLIWIECKI S., BURTON J.L. Evening primrose oil and marine oil in the treatment of psoriasis. **Exp. Dermatol.**, 19: 127-129, 1994.
- ONO K. Effects of large dose vitamin E supplementation on anemia in hemodialysis patients. **Nephron**, 40: 440-445, 1985.
- OSAKI T.; UETA E.; YONEDA K.; HIROTA J.; YAMAMOTO T. Prophylaxis of oral mucositis associated with chemoradiotherapy for oral carcinoma by Azelastine hydrochloride (Azelastine) with other antioxidants. **Head Neck**, 16: 331-339, 1994.
- OSHITANI T.; OKADA K.; KUSHIMA T.; SUEMATSU T.; OBAYASHI K.; HIRATA Y. *et al.* Clinical evaluation of sodium alginate on oral mucositis associated with radiotherapy.

- Nippon Gan Chiryō Gakkai Shi**; 25: 1129-1137, 1990 (abst).
- OSKI F.A. Vitamin E –A radical defense (editorial). **N. Engl. J. Med.**, 303: 454-455, 1980.
- OXHOLM P., MANTHORPE R., PRAUSE J.U., HORROBIN D. Patients with primary Sjögren's syndrome treated for two months with evening primrose oil. **J. Rheumatol.**, 15: 103-108, 1986.
- PARSONS J.T. The effect of radiation on normal tissues of the head and neck. In: MILLION RR, CASSISI NJ (ed.). **Management of head and neck cancer - A multidisciplinary approach**. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1984. p. 173.
- PARSONS J.T.; MILLION R.R.; CASSISI N.J. Carcinoma of the base of the tongue: results of radical irradiation with surgery reserved for irradiation failure. **Laryngoscope**, 92: 689-696, 1982.
- PEREZ C.A. Nasopharynx. In: PEREZ CA, BRADY L (ed.). **Principles and practice of Radiation Oncology**. 3. ed. Philadelphia, Lippincott-Raven, 1997. p. 897-939.
- PHELPS D.L.; ROSENBAUM A.L.; ISENBERG S.J.; LEAKE R.D.; DOREY F.J. Tocopherol efficacy and safety for preventing retinopathy of prematurity: a randomized, controlled, double-masked trial. **Pediatrics**, 79: 489-500, 1987.
- PILLSBURY H.C.; WEBSTER W.P.; ROSENMAN J. Prostaglandin inhibitor and radiotherapy in advanced head and neck cancers. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, 112: 552-553, 1986.
- PORTEDER H.; RAUSCH E.; KMENT G.; WATZEK G.; MATEJKA M.; SINZINGER H. Local prostaglandin E₂ in patients with oral malignancies undergoing chemo and radiotherapy. **J. Craniomaxillo Surg.**, 16: 371, 1988.
- RAJU G.B.; BEHARI M.; PRASAD K.; AHUJA G.K. Randomized double-blinded, placebo controlled, clinical trial of D-alpha-tocopherol (vitamin E) as add-on therapy in uncontrolled epilepsy. **Epilepsia**, 35: 368-372, 1994.
- REGAN V.; SERVINOVA E.; PACKER L. Antioxidant effects of ubiquinones in microsomes and mitochondria are mediated by tocopherol recycling. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**; 169: 851-856, 1990.

- ROBERTS H.J. Vitamin E and thrombophlebitis. **Lancet**, 1: 49-51, 1978.
- ROOTS R.; OKADA S. Estimation of life times and diffusion distances of radicals involved in X-ray-induced DNA strand breaks or killing of mammalian cells. **Radiat. Res.**, 64: 306-320, 1975.
- ROSIN M.P.; DUNN B.P.; STICH H.F. Use of intermediate endpoints in quantifying the response of precancerous lesions to chemopreventive agents. **Canad. J. Physiol. Pharmacol.**, 65: 483-487, 1987.
- ROSSO M.; BLASI G.; GHERLONE E.; ROSSO R. Effect of granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) on prevention of mucositis in head and neck cancer patients treated with chemo-radiotherapy. **J. Chemother.**; 9: 382-385, 1997.
- ROTHWELL B.R.; SPELTON W.S. Palliation of radiation-related mucositis. **Special Care Dentistry**, 10: 21-25, 1990.
- SAMARANAYAKE L.P.; ROBERTSON A.G.; MACFARLANE T.W.; HUNTER I.P.; MACFARLANE G.; SOUTAR D.S. *et al.* The effect of chlorhexidine and benzydamine on mucositis induced by therapeutic irradiation. **Clin. Radiat.**, 39: 291-294, 1988.
- SCHALIN-KARRILA M., MATTILA L., JANSEN C.T., UOTILA P. Evening primrose oil in the treatment of atopic eczema: effect on clinical status, plasma phospholipid fatty acids and circulating blood prostaglandins. **J. Dermatol.**, 117: 11-19, 1987.
- SCHERLACHER A.; BEUFORT-SPONTIN E. Radiotherapy of head and neck neoplasms: prevention of the inflammation of the mucosa by sucralfate treatment. **HNO**, 38: 24-28, 1990.
- SCHMIDZ W. The micronucleus test. **Mutat. Res.**, 31: 9-15, 1975.
- SCHUCHTER L.M.; GLICK J. The current status of WR-2721 (amifostine): a chemotherapy and radiation therapy protector. **Biol. Ther. Cancer**; 3: 1-5, 1993.
- SCHULZ H.; SCHROEDER K.; FELDHEIM W. Studies on the tocopherol status in blood serum of premature babies and infants. **Z. Ernährungswiss**, 25: 1-8, 1986 (abst).
- SEGRETO R.A.; SEGRETO H.R. Radiação ionizante e resposta celular – atualidades. **Radiol. Bras.**, 30: 301-307, 1997.

- SHAFER W.G.; HINE M.K.; LEVY B.M. **Tratado de patologia bucal**. 4. ed. São Paulo, Interamericana, 1985. p. 376-433.
- SHAHEEN A.A.; HASSAN S.M. Radioprotection of whole body gamma-irradiation-induced alteration in some haematological parameters by cysteine, vitamin E, and their combination in rats. **Strahlenther Onkol.**, 167: 498-501, 1991.
- SHKLAR G. Oral mucosal carcinogenesis in hamsters. Inhibition by vitamin E. **J. Nat. Cancer Inst.** 68: 791-793, 1982.
- SINZINGER H.; PORTERDER H.; MATEJKA M.; PESKAR B. Prostaglandins in irradiation induced mucositis. **Lancet**, 1: 556-558, 1989.
- SLOGA T.J.; BRACKEN W.M. The effects of antioxidants on skin tumor initiation and aryl hydroxylase. **Cancer Res.**, 37: 1631-1635, 1977.
- SNEDECOR G.W.; COCHRAN W.G. **Statistical methods**. 6.ed. Ames. Iowa. State, University Press, 1967.
- SONIS S.T. Oral complications of cancer therapy. In: DE VITA VT, HELLMAN S, ROSENBERG SA, ed. **Cancer. Principles and practice of Oncology**. 4.ed. Philadelphia, JB Lippincott, 1993. p. 2385.
- SPANDINGER B.; HODGES E.; RUBY E.; STANLEY R.; COCCIA P. Effect of granulocyte-macrophage colony stimulating factor on oral mucositis after haematopoietic stem cell transplantation. **J. Clin. Oncol.**, 12: 1917-1922, 1994.
- SPIJKERVET F.L.; VAN SAENE H.K.; PANDERS A.K.; VERMEY A.; MEHTA D.M. Effect of chlorhexidine rinsing on the oropharyngeal ecology in patients with head and neck cancer who have irradiation mucositis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Path.**, 67: 154-158, 1989.
- SPIJKERVET F.L.; VAN SAENE H.K.; VAN SAENE J.M.; PANDERS A.K.; VERMEY A.; MEHTA D.M. Mucositis prevented by selective elimination of oral flora in irradiated head and neck cancer patients. **J. Oral Pathol. Med.**, 19: 486-489, 1991.
- STEPHENS N.G.; PARSOSN A; SCHONFIELD P.M.; KELLY F.; CHEESEMAN K.; MITCHINSON M.J. Randomized controlled trial of vitamin E in patients with coronary

- disease. Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). **Lancet**, 347: 781-786, 1996.
- STICH H.F.; ROSIN M.P.; HORBY A.P.; SANKARANARAYANAN R.; NAIR M.K. Remission of oral leucoplakias and micronuclei in tobacco-betel quid chewers treated with beta-carotene and with beta-carotene plus vitamin A. **Int. J. Cancer**, 42: 195-199, 1988.
- STICH H.F.; ROSIN M.P.; VALLEJERA M.O. Reduction with vitamina A and beta-carotene administration of proportion of micronucleated buccal mucosal cells in Asian betel nut and tobacco chewers. **Lancet**, i: 1204-1206, 1984.
- SYMONDS R.P. Treatment-induced mucositis. an old problem with new remedies. **Br. J. Cancer**; 77: 1689-1695, 1998.
- SYMONDS R.P.; MCILROY P.; KHORRAMI J.; PAUL J.; PYPER E.; ALCOCK S.R. *et al.*. The reduction of radiation mucositis by selective decontamination antibiotic pastilles: a placebo controlled double bind trial. **Br. J. Cancer**, 74: 312-317, 1996.
- TAMPO Y.; YONAHA M. Vitamin E and glutathione are required for preservation of microsomal glutathione 5-transferase from oxidative stress in microssomes. **Pharmacology**, 66: 259-262, 1990.
- TAYLOR K.M.; JAGANNATH S.; SPITZER G.; SPINOLO J.A.; TUCKER S.L.; FOGEL B. *et al.*. Recombinant human granulocyte colony stimulating factor hastens granulocyte recovery after high dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation in Hodgkin's disease. **J. Clin. Oncol.**, 7: 791-1799, 1989.
- TESKE M.; TRENTINI A. **Compêndio de Fitoterapia**. 2.ed. Curitiba, Herbarium, 1994. p. 233-235.
- THROUVALAS M.; ANTONADOU D.; PULIZZI M.; SARRIS G. Evaluation of the efficacy and safety of GM-CSF in the prophylaxis of patients with head and neck cancer treated by RT. Apresentado na **European Conference of Clinical Oncology (ECCO)**, p. 593. Federation of European Cancer Societies, Paris, 1995, abstract 431.
- TROUSSARD X.; MACRO M.; VIE B.; BASTIO A.; PENY A.M.; REMAN O. *et al.*. Human recombinant granulocyte macrophage colony stimulating factor (hr GM-CSF) improves double hemibody irradiation (DHBI) tolerance in patients with stage III multiple

- myeloma. a pilot study. **Br. J. Hematol.**, 89: 191-195, 1995.
- UCELLA R., CONTINI A., SARTORIO M. Action of evening primrose oil on cardiovascular risk factors in insulin-dependent diabetics. **Ter.**, 129: 381-388, 1989 (abst).
- UICC, UNIÃO INTERNACIONAL CONTRA O CÂNCER. **TNM- Classificação dos tumores malignos**. 5.ed. Rio de Janeiro, Brasil, Ministério da Saúde, 1998.
- VALLS A.; ALGARA M.; DOMÈNECH M.; LLADÓ A.; FERRER E.; MARIN S. Efficacy of sucralfate in the prophylaxis of diarrhea secondary to acute radiation-induced enteritis. Preliminary results of a double-blind randomized trial. **Med. Clin. (Barc.)**, 96: 449-452, 1991.
- VAN ACKER S.A.; HOYMAN L.; BAST A. Molecular pharmacology of vitamin E: structural aspects of antioxidant activity. **Free Radic. Biol. Med.**, 15: 311-328, 1993.
- VAN DER MERWE C.F., BOOYENS J., JOUBERT H.F., VAN DER MERWE C.A. The effect of gamma-linolenic acid, an in vitro cytostatic substance contained in evening primrose oil, on primary liver cancer. A double-blind placebo controlled trial. **Leukot. Essent. Fatty Acids**, 40: 199-202, 1990 (abst).
- VAN POPPEL G.; KOK F.J.; HERMUS R.J. Beta-carotene supplementation in smokers reduces the frequency of micronuclei in sputum. **Brit. J. Cancer**, 66: 1164-1168, 1992.
- VAN SAENE H.K.; MARTIN M.V. Do micro-organisms play a role in irradiation mucositis? **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, 9: 861-863, 1990.
- WADLEIGH R.G.; REDMAN R.S.; GRAHAM M.L.; KRASNOW S.H.; ANDERSON A.; COHEN M.H. Vitamin E in the treatment of chemotherapy-induced mucositis. **Am. J. Med.**, 92: 481-484, 1992.
- WAGNER W.; PROTT F.J.; SCHONEKAS K.G. Amifostine: a radioprotector in locally advanced head and neck tumors. **Oncol. Rep.**, 5: 1255-1257, 1998.
- WAGNER, MB: Medindo a ocorrência da doença: prevalência ou incidência? **J. Pediatr.**, 74: 157-162. 1998
- WARD R, PETERS T: Free radicals. In: MARSHAL W, BANGERT S (ed.). **Clinical Biochemistry – Metabolic and clinic aspects**. London, Church Livingstone, 1995. p.

765-777.

WASSERMAN T.; CHAPMAN D.; COLEMAN N.; KLIGERMAN M. Chemical modifiers of radiation. In: PEREZ CA, BRADY L (ed.). **Principles and practice of Radiation Oncology**. 3.ed. Philadelphia, Lippincott, 1997. p. 685-704.

WATSON R.R.; LEONARD T.K. Selenium and vitamin A, E and C: nutrients with cancer prevention properties. **J. Am. Diet. Assoc.**, 86: 505-510, 1986.

WHITAKER D.K., CILLIERS J., DE BEER C. Evening primrose oil (Epogram) in the treatment of chronic hand dermatitis: disappointing therapeutic results. **Dermatology**, 193: 115-120, 1996.

WITTING L.A.; In: PRYOR W.A. (ed). **Free radicals in biology**. Vol IV. New York, Academic Press, 1980. p. 295-319.

ZAGHLOUL M.S.; DORIE M.J.; KALLMAN R.F. Interleukin 1 increases thymidine labeling index of normal tissues of mice but not the tumor. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, 29: 805-811, 1994.

ZUBROD C.G.; SCHEIDERMAN M. Appraisal of methods for the study of chemotherapy of cancer in man. **J. Chronic Dis.**, 11: 7-33, 1960.

APÊNDICE 1

CONSENTIMENTO INFORMADO

TÍTULO DO PROTOCOLO: EFEITO RADIOPROTETOR DA VITAMINA E NA ESTOMATITE
RADIOINDUZIDA: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO E DUPLO-CEGO

NOME DO PACIENTE: _____ RG/SSP _____

1. INTRODUÇÃO: A participação neste trabalho é livre e de caráter voluntário, isto é, sem qualquer tipo de obrigação ou dependência para com a radioterapia, podendo ser interrompida por desejo do paciente a qualquer momento. A identidade dos pacientes não será mencionada nas publicações advindas deste trabalho.

Caso já não tenham realizado exames de avaliação prévios em outros serviços, os pacientes admitidos neste trabalho deverão ser submetidos a hemograma, exame radiológico do tórax e tomografia computadorizada da cabeça e pescoço, que são rotineiros na avaliação de pacientes submetidos a tratamento e não estão associados a maiores riscos de complicações, salvo reações alérgicas ao meio de contraste.

2. DESCRIÇÃO DA PESQUISA: A radioterapia da cabeça e pescoço geralmente causa o surgimento de uma inflamação na mucosa da boca e garganta chamada de **estomatite**, que pode causar dor e dificuldades na alimentação. Até o presente não há uma medicação eficaz para este efeito colateral. Este estudo objetiva determinar se a vitamina E exerce algum tipo de proteção à mucosa da boca e orofaringe nos pacientes submetidos a radioterapia da cabeça e pescoço. De acordo com critérios científicos, cada paciente será sorteado ou para receber a vitamina E nas doses recomendadas durante o período da radioterapia, ou uma medicação chamada placebo, que não tem efeito terapêutico. Ambas as medicações costumam ser muito bem toleradas, e não apresentam efeitos colaterais indesejáveis nas doses usuais. Esta informação será do conhecimento exclusivo de um médico não diretamente envolvido na pesquisa. Ao final do estudo as informações serão processadas, e assim, saberemos se a medicação testada realmente é eficaz. Periodicamente, um médico deste serviço examinará a mucosa da boca e garganta para controle clínico e coleta de células de modo indolor e de forma a não causar dano ao paciente. A vitamina E não costuma apresentar efeitos colaterais graves nas doses que serão administradas e, por isto, não serão esperados efeitos indesejáveis graves advindos do emprego desta medicação. No caso de surgir qualquer problema clínico decorrente deste estudo, estará assegurado o atendimento ao paciente. Se este medicamento mostrar-se eficaz, esperamos que haja uma redução significativa na intensidade da estomatite.

3. ENTENDIMENTO DO PARTICIPANTE:

- Concordo que tive a oportunidade de formular perguntas sobre o tratamento proposto, e que meus médicos se mostraram solícitos em respondê-las. Este tratamento será administrado sob as condições utilizadas acima. Eu, assim, autorizo o Dr. _____, ou a quem ele designar, para administrar-me o tratamento.
- Reconheço que minha participação é voluntária, podendo meu consentimento ser por mim anulado e cessar minha participação no estudo a qualquer momento.
- Foi-me assegurado que minha privacidade será mantida e que meu nome não será mencionado nas publicações advindas deste estudo sem meu consentimento.
- Eu poderei discutir quaisquer dúvidas ou problemas durante ou após este estudo com o Dr. _____

4. CONSENTIMENTO

Baseado nos esclarecimentos acima eu consinto em participar do tratamento proposto.

Assinatura do paciente

Data: / /

Assinatura da testemunha

Data: / /

Assinatura do médico

Data: / /

APÊNDICE 2



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
COMISSÃO CIENTÍFICA DA FACULDADE DE MEDICINA E
HOSPITAL SÃO LUCAS DA PUCRS

Of. nº 233/97-CC

Porto Alegre, 23 de julho de 1997.

Senhor Professor

A Comissão Científica da Faculdade de Medicina e Hospital São Lucas da PUCRS, apreciou e aprovou o seu projeto de pesquisa "Vitamina E na prevenção da Mucosite da Cavidade Oral e Orofaringe Induzida pela Radioterapia em Tumores da Cabeça e Pescoço".

O protocolo será agora enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa.

Atenciosamente

Prof. Dr. Luis Fernando Moreira
Coordenador da Comissão Científica da
Faculdade de Medicina e HSL-PUCRS

Ilmo(a). Sr(a).
Prof. Dr. Paulo Renato Figueiredo Ferreira
N/Universidade

APÊNDICE 3



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP - PUCRS

Of. nº 186/97-CEP

Porto Alegre, 08 de setembro de 1997

Senhor Pesquisador

Comunicamos a V.Sa. que o seu projeto de pesquisa intitulado:
“Vitamina E na prevenção da mucosite da cavidade oral e orofaringe induzida pela radioterapia em tumores da cabeça e pescoço” foi avaliado e aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa

Atenciosamente.

Prof. Dr. Délio José Kipper
Coordenador do CEP-PUCRS

Ilmo. Sr.
Dr. Paulo Renato Figueiredo Ferreira
N/Universidade

APÊNDICE 4



RESOLUÇÃO

As Comissões Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela CONEP como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, reanalisaram o projeto:

Número: 98023

Título: "VITAMINA "E" NA PREVENÇÃO DA MUCOSITE DA CAVIDADE ORAL E OROFARINGE INDUZIDA PELA RADIOTERAPIA EM TUMORES DE CABEÇA E PESCOÇO".

Autores: Paulo Renato Figueiredo Ferreira, James F. Fleck.

- O mesmo foi aprovado, por estar adequado ética e metodologicamente, de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos (Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde) e às Resoluções Normativas do GPPG/HCPA. Os autores deverão encaminhar relatórios semestrais sobre o andamento do Projeto.

Porto Alegre, 18 de março de 1998.



Profª Themis Reverbel da Silveira,
Coordenadora do GPPG e CEP/HCPA.

APÊNDICE 5

FICHA INDIVIDUAL DE DADOS

PROTOCOLO: Efeito protetor da vitamina e na estomatite radioinduzida

Paciente: _____

Registro HSL: Registro SERP: Caso: Sexo 1-M 2-F Idade: Diagnóstico: 1-carcinoma epidermóide 2- carcinoma indiferenciado 3-adenocarcinoma 4- outro: _____ TNMEstádioLocal do tumor: 1-cavidade oral (____) 2-orofaringe (____) 3-MTS cervicais de tumor 1^{ário} não localizado 4-rinofaringe 5-seio maxilar 6-outro (____)Dose total de radioterapia (cGy/semanas): /____ Área de mucosa oral (cm²): Data início da radioterapia: /____/____ Data término da radioterapia: /____/____Avaliação estomatológica: 1-doença periodontal 2-cárie 3-pericoronarite 4-gengivite 5-língua saburrosa 6-leucoplasia 7-hiperplasia fibrosa 9-não realizou

REGISTRO SEMANAL:

SEMANA-SESSÃO RT	DATA	DOSE (cGY)	PESO (Kg)	GRAU da ERI	SINTOMA	TOXICIDADE	CONTAGEM μ NÚCLEOS
0 - 0		-		-	-	-	
1 - 5							
2 - 10							
3 - 15							
4 - 20							
5 - 25							
6 - 30							
7 - 35							

Sintomas: 0=assintomático 1=odínofagia 2=xerostomia 3=diminuição paladar 4=outro

Toxicidade: 0=nenhuma 1=monilíase 2=náusea 3=vômito 4=febre 5=sangramento

6=diarréia/flatulência 7=outro ()

ACOMPANHAMENTO PÓS-RADIOTERAPIA

DATA	SITUAÇÃO (sintomas, controle local, efeitos tardios, etc.)

Condição ao final do estudo: 1-vivo 0-morto Sobrevida (meses) ILD:

Obs:

**ARTIGO
CIENTÍFICO**

**α -TOCOPHEROL (VITAMIN E) IN THE PREVENTION OF RADIATION INDUCED
MUCOSITIS: A DOUBLE-BLIND RANDOMIZED TRIAL CONTROLLED BY
MICRONUCLEI ASSAY**

ABSTRACT

PURPOSE: to test if vitamin E, as a single drug, is able to provide oral mucosal protection in patients with cancer of the head and neck (CH&N) treated with radiation therapy alone (RTA) or post-operative (PORT), as well as to investigate if micronuclei assay is a predictive marker of this effect.

MATERIAL AND METHODS: patients with cancer of the oral cavity and pharynx, operated or not, were admitted. Radiation doses ranged from 50-70Gy/5-7 weeks (normal fractionation) with ^{60}Co , depending on if PORT or RTA. An oil solution containing either 400 mg of vitamin E or 500 mg of placebo was rinsed twice a day over the oral cavity. Once a week the oral cavity was inspected and the oral mucosal cells harvested for micronuclei assay. It was calculated a density of incidences of severe mucositis (grade \geq 2). All the p values were two-tailed. Values of $\alpha=0.05$, $\beta=0.20$ and power of 0.80 were utilized.

RESULTS: severe mucositis was more frequent in patients of the placebo group (54 events/161 patients-week = 33.5%) than in those of the vitamin E group (36 events/167 patients-week = 21.6%) ($p=0.038$). Vitamin E was able to reduce by 36% the risk of severe mucositis. No impact was detectable in duration of severe mucositis, weight loss and 2 year survival. Numbers of micronucleated cells had no significant differences in both arms.

CONCLUSION: This treatment seems to be effective and safe in reducing the intensity of severe radiation induced mucositis in patients with CH&N.

KEY WORDS: mucositis, radiotherapy, tocopherol (vitamin E), cancer of the head and neck

INTRODUCTION

Over 100 % of the patients with cancer of the head and neck treated with irradiation develop mucositis of the upper aerodigestive tract during radiotherapy¹. If significant damage is inflicted to the basal layer cells, epithelial regeneration is impaired, and besides causing pain, this damage may compromise tumor control by determining decrease in dose intensity and interruptions of the treatment². Oxygen free radicals generated in cellular water have been implicated in the biological effect of ionizing radiation³. They induce DNA structural modifications which are incompatible with cell survival if not repaired⁴ and also remove hydrogen atoms from cell membrane fatty acids, a reaction called lipidic peroxidation, with resultant alterations in membrane permeability and, ultimately, in cell death⁵. Some drugs have been proposed in the prevention and treatment of mucositis, as oral anti-septics, antiinflammatories, antibiotics, antiulcer, prostaglandins, colony stimulating factors, radioprotectants (thiols, vitamins) etc.. However, their efficacy has not been sufficiently proved. Alpha-tocopherol (vitamin E) is the most important natural antioxidant present in the human blood^{8, 9}. Its main biological function is to scavenge the peroxyl free radical (HO_2) in the cell membrane. Because of its free radical inactivation capabilities, vitamin E in supraphysiological doses has been proposed as a potential chemo^{10, 11} and radioprotectant agent¹². Under certain conditions, mitotic cells with translocations or chromatid breaks may suffer a disturbance in chromatin distribution during anaphase. This displaced chromatin, if not included in the nucleus of the offspring cells, may become a cytoplasmatic "micronucleus". Micronuclei have been considered a specific marker in monitoring the genetic damage induced by ionizing radiation^{13, 14}, although it may also be induced by carcinogens, chemotherapy drugs, etc.. The quantity of micronuclei in a irradiated tissue is proportional to the cell damage. Our study was designed to test the hypothesis that vitamin E, as a single drug, is able to provide oral mucosal protection in patients with cancer of the head and neck treated with radiation therapy alone or post-operative, as well as to investigate if micronuclei assay is a predictive marker of this effect.

PATIENTS AND METHODS

Patient selection

From December 1997 to December 1999, seventy-six patients with histological diagnosis of cancer of the oral cavity, oropharynx, nasopharynx or cervical nodal metastasis with unknown primary (i.e.: tumor locations where a reasonably area of oral mucosa is usually included in the irradiation fields), previously operated or not, were referred for treatment at the department of radiation oncology of Hospital Sao Lucas da Pontificia Universidade Catolica do Rio Grande do Sul (HSL-PUCRS) in Porto Alegre, Southern Brazil. Fifty-four of them met the patient selection criteria, which consisted in: 1) a minimal oral mucosa area irradiated equal or larger than 12,2 cm². The limits of this mensuration were the hard palate (superior), the floor of the mouth (inferior), the anterior border of the vertical portion of the mandible (posterior) and the distal border of the irradiation field (anterior); 2) age of 21 years or higher; 3) Zubrod performance status¹⁵ grade II or better, and 3) no concomitant use of oral anticoagulants, previous or current history of other cancers, previous history of radiation therapy in the head and neck area or previous or concomitant chemotherapy. The initial evaluation consisted in history, physical and otolaryngological examination, oral and dental inspection, computed tomography of the head and neck, chest x-ray study and complete blood count. Patients were staged accordingly to the UICC (International Union Against Cancer) -TNM classification, 5th edition¹⁶.

This study was in accordance with the ethic standards of the Helsinki Declaration of 1975 revised in 1983, and was approved by the Scientific and Bioethics Committees of both institutions involved in the research.

Treatment planning and randomization

All the patients were treated in a Cobalt 60 unit (Theratron Phoenix), 80 cm target-skin distance. Two parallel opposed fields were designed with customized cerrobend blocks to include the tumor with approximately 2 cm of safe margin around, and the upper cervical lymph nodes bilaterally. Anterior supraclavicular fields were added if metastatic cervical

lymph nodes were present, the primary tumor was located in nasopharynx, tonsillar region or tongue. A daily dose of 2 Gy/section/5 days a week was calculated at the midline up to the dose of 44 Gy/4,5 weeks. A first field reduction was then proceeded for spinal cord sparing up to the dose of 60 Gy/6 weeks, when a second reduction set the fields only around the tumor with 1-2 cm margins up to the dose of 70 Gy/7 weeks. Patients previously treated with complete or partial resection received total doses of 50 and 60 Gy in 6 and 7 weeks, respectively, with similar technique. Check films were routinely used for patient set up and subsequent quality control throughout the radiation therapy.

Selected patients were randomized by other collaborators not directly involved in this study in order to receive either 400 mg of vitamin E (Ephynal®, Produtos Roche Quimicos e Farmaceuticos, Sao Paulo, SP, Brazil) or 500 mg of placebo (Efamol Pure Evening Primrose Oil®, Kentville, NS, Canada). These drugs are available as an oil solution enclosed in a capsule, which had to be tore in the mouth, solved in saliva, rinsed all over the oral cavity twice a day (the first time during 5 minutes immediately before every section of irradiation and the second, after 8-12 hours at the patient's home) and then swallowed. The capsules had the same size, shape, color and texture and were given to the patients in vials replenished weekly. The drug used as placebo is a combination of fatty acids (oleic, linoleic, gama -linoleic, palmitic, stearic and others), but also contains 2,5 % of vitamin E in its formula (13 I.U. per capsule of 500 mg). Both patients and physicians were unaware (blinded) on the identification of the drugs used.

Oral mucosal evaluation

On the day previous of the treatment onset, as well as in the following weekly encounters during the whole course of the radiation therapy, patients had their weight registered and their oral mucosa inspected. The RTOG/EORTC (Radiation Therapy Oncology Group/European Organization for Research and Treatment of Cancer) scores for grading oral mucositis were used¹⁷. Superficial epithelial cell collection for micronuclei assay were harvested bilaterally in the area of the retromolar trigone through a gynecological brush.

The material was spread on two glass slides and then fixed in alcohol 95°. The Feulgen's staining method, as described by Mikel et al¹⁸, was used because it is specific for DNA. All the slides were processed in the Cytopathology Department of Hospital de Clinicas de Porto Alegre. The micronuclei frequency was established per 1000 normal cells. Slides with less than this number were rejected. A Zeiss microscope, with magnification of 20-40X was utilized. In order to be identified as a micronuclei, the criteria proposed by Countryman et al¹⁹ were used. The candidate micronuclei should: 1) consist of nuclear material; 2) be completely separated of the original nucleus; 3) have an area less than 1/5 of the original nucleus; 4) have light intensity, color and texture similar to the original nucleus; 5) be positioned at a distance up to 4 times the axis of the nearest nucleus; 6) be not fragmented; 7) be round or oval, and 8) be in the same focal plane of the nucleus.

Statistics

The main endpoint was the intensity of the mucositis. An intention to treat analysis was adopted, as all randomized patients were analyzed. For the purpose of this study, patients with grades II to IV were considered as having severe mucositis. "Patients-week" were defined as those who were in the study in every week of radiation therapy, exposed to the factor (i.e. mucositis) and receiving intervention (radiation therapy and vitamin E/placebo). For every patient-week, each notation of mucositis was considered as one event. It was calculated a density of incidences of the severe mucositis, i.e., a quotient between the number of severe mucositis events and the number of patients-week. Differences in the scores of severe mucositis between both groups were used for the sample size calculation according to the method described by Fleiss²⁰]. Parameters were obtained from a pilot study conducted with the first 28 patients (14 in each arm). A significant level of 5% and a statistical power of 80% were adopted in order to test a minimal difference of incidence of at least 15 events (e.g.: mucositis and deaths) for every 100 patients-week (for example, 35 events/100 patients-week in the vitamin E group versus 20 events/100 patients-week in the placebo group). Secondary investigations were performed between the groups concerning survival, duration of mucositis, weight loss and frequency of

micronucleated cells. For the same significance level and statistical power, the estimated sample sizes were sufficient to detect differences of at least 10 days for the duration of severe mucositis, 11 kg for weight loss and 2 micronucleated cells between both arms.

All the patients lost of follow-up were considered as having died due to cancer related factors. For the patients who could not be systematically followed in the hospital after the end of the treatment, confidential information was obtained from a letter or telephone call to the referring physician or contact with the patient or his/her relatives. Pre-treatment factors, as well as differences of intensity of mucositis and complications were analyzed by the Pearson's Chi-square test, with a confidence interval of 95% (CI95%). Student t test and Mann-Whitney test were utilized for comparing differences between means and medians, respectively. Survival functions were obtained by the Kaplan-Meier test²¹, and the differences in survival curves were measured by the Log Rank Test²². All the p values were two-tailed.

RESULTS

Patient characteristics

One hundred fifty-one patients-week were estimated as necessary in each arm. Since the same sample criteria and methodology were maintained uniform, the 28 initial patients were incorporated in the definitive study. From December 1997 up to December 1999, seventy-six patients with cancer of the head and neck of several anatomical localizations were evaluated in the Department of Radiotherapy of the HSL-PUCRS by the main investigator of the study. Fifty-four patients were considered eligible. The frequency by gender, age, histological type, tumor location, stage, smoking and alcohol consumption is shown in table 1. No significant differences were detected. Most of the patients were men. The mean age was 55,4 years (standard deviation [SD]=12,5). The most frequent histology and location were squamous cell carcinoma and oral cavity, respectively. Forty patients had locally advanced tumors (stages III and IV): 24/28 (85,7%) belonged to the vitamin E group and 16/26 (61,5%) belonged to the placebo group (RR =1,39;

CI95%=0,99-1,96; $p=0,086$). Oral and dental evaluation were proceeded in 85% of the vitamin E patients and in 80% of the placebo group patients.

Treatment characteristics

Mean dose at the primary site and duration of radiation therapy for the vitamin E and placebo groups were 59 Gy/5,9 weeks (SD=0,99) and 62 Gy/6,2 weeks (SD=0,75), respectively ($p=0.350$). For the same groups the median area of oral mucosal irradiation were 20.7 cm² (range:12.2-33.8) and 22.9 cm² (range:12.5-35.0), respectively ($p=0.176$). Thirty per cent of all patients could attend the monthly follow-up after the end of radiation therapy. Median follow-up for these patients was 3 months (range:0-24 months).

Survival rates

At two years, probability of absolute and median survivals were 44.8% and 9,5 months (range: 2-24), respectively (figure 1). For the patients of the vitamin E and placebo groups, these figures were 32,2% - 8.5 months (range: 2-24) and 62.9% - 12.5 months (range: 2-23), respectively ($p=0.126$). Due to the predominance of patients with locally advanced tumors in the vitamin E group we proceeded a stratified analysis only with patients in stages III and IV (figure 2). Median and absolute survivals in the same period for the patients of vitamin E and placebo were 12 months and 21,9% and 16 months and 37,1%, respectively ($p=0,675$).

Intensity of mucositis, duration and weight loss

Table 2 analyses the distribution of severe mucositis in both groups. According to table 3, the density of incidences of severe mucositis was higher in the placebo group than in the vitamin E group ($p=0,038$). According to this result, it is necessary 8.3 patients-week in order to vitamin E avoid one event. The peaks of maximum frequency of severe mucositis occurred at the 6th week and 5th week for the patients of vitamin E and placebo groups, respectively (figure 3). In the day preceding the treatment onset the mean weight

of the vitamin E group was 60,4 kg (SD= 10,4) and of the placebo group, 66,2 kg (SD= 14,0). The mean weight loss during the treatment was higher for both arms, although the differences were not significant ($p=0,972$).

Frequency of micronucleated cells

Fifteen out of 167 slides (9%) of exfoliated epithelial cells with less than 1000 viable cells of the vitamin E patients and 25/161 slides (15.5%) of the placebo patients were rejected. The median numbers of micronucleated cells/1000 viable cells for both groups of treatment were 3.6 (range: 1.4-8.5) and 3.2 (range: 0.5-6.7), respectively ($p=0.249$).

Protocol violation

Three patients from the vitamin E group did not receive the prescribed doses due to severe mucositis (2 patients) or death attributed to tumor progression (1 patient). A "per protocol" analysis was conducted without these three patients in order to detect their impact in the results (table 4). The decrease in the mucositis intensity in the patients of vitamin E group became even more evident ($p=0.002$) if compared to the "intention to treat" analysis.

Toxicity

Two thirds of the patients in both arms of the study presented detectable side effects (table 5). Nausea was the most common effect. The frequencies of these side effects were not significantly different in both groups of treatment ($p=0.216$).

DISCUSSION

Although the mean dose and the median area of irradiation have been higher in the placebo group, differences were not statistically significant, and the pre-treatment characteristics were considered uniformly distributed in both groups.

The concentration of vitamin E in our placebo was considered acceptable for the purpose of this analysis because it corresponds to only 3.1% of the drug concentration present in the active medication. The presence of vitamin E in placebo capsules has been reported in similar studies¹⁰. Severe mucositis was defined as grade 2 or higher because these manifestations are associated to a poorer quality of life than grade 1 lesions. We chose the doses and administration of vitamin E based on some clinical studies, which investigated the mucoprotective effect of this drug mostly in patients treated with chemotherapy^{10, 11, 23}. The administration was mainly topic, in doses which ranged from 200 mg up to 800 mg per day. Lopez et al¹¹ administered vitamin E or placebo to 19 patients with acute myeloid leukemia treated with chemotherapy. They found a plasmatic concentration of vitamin E unexpectedly lower in patients receiving vitamin E than in patients receiving placebo. Their data suggested that the intestinal absorption of vitamin E does not seem significant, and that the mucoprotective action was mainly due to a local effect. Significant evidence of intestinal^{12, 24, 25} and oral mucosal protection²⁶ has been reported in rodents treated with systemic or topic vitamin E, as well as in randomized clinical trials which evaluated vitamin E in patients treated with chemotherapy alone¹¹ or combined with radiation therapy and other radioprotective drugs²³.

The frequency of severe mucositis in the experimental arm was about 64% of that observed in the placebo arm, which means that vitamin E reduced in 36% the risk of severe mucositis development. As the differences in duration of mucositis, weight loss and micronucleated cells were inferior to the minimal differences detectable by the sample size, our study had no sufficient statistical power to, conclusively, define if vitamin E was capable or not to significantly influence these factors.

In a study like ours, the possibility of a certain radioprotective drug extend its effect to the tumor cells is always pertinent. Overall survival and disease free survival may be reasonable controls. Although our study had been designed to follow patients after treatment, only 30% of them returned for follow-up due to socioeconomic reasons. However, data concerning overall survival was considered confident. It is unlikely that

vitamin E has influenced survival, as the differences were not significant between both arms.

Nausea was more frequently complained by patients of the vitamin E group, where as bleeding was more frequent in the placebo group. The differences were non significant. These data suggest that vitamin E did not added relevant toxicity.

CONCLUSIONS

Patients of the vitamin E group had a decrease in the intensity of mucositis, as they had lower frequencies of severe mucositis than the patients of the placebo group. Our study had no sufficient statistical power to conclusively assess differences in the duration of severe mucositis, weight loss and frequency of micronucleated cells.

The administration of vitamin E was simple, side effects had low toxicity and no significant influence in survival was noticed. We consider that vitamin E has a potential efficacy in the protection of irradiated patients with tumors of the oral cavity, pharynx and unknown primary with cervical metastasis. However, due to the small size of our series, the radioprotective effect of vitamin E could not be definitively measured. New studies are necessary to confirm our results.

REFERENCES

1. Sonis ST: Oral complications of cancer therapy. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer. Principles and practice of Oncology*. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1993. p. 2385-2393.
2. Amdur RJ, Parsons JT, Mendenhall WM, Million RR, Cassisi NJ: Split course versus continuous irradiation in the post-operative setting for squamous carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 17:279-285.
3. Altman KI: Radiation chemistry. In: Dalrymple GV, Gaulden ME, Kollmorgen GM, Vogel HH (edit): *Medical radiation biology*. Toronto: WB Saunders Company; 1973. p.15-29.

4. Brock WA: Kinetics of micronucleus expression in synchronized irradiated Chinese hamster ovary cells. *Cell Tissue Kinet* 1985; 18:247.
5. Ward R, Peters T: Free radicals. In: Marshall W, Bangert S (edit.): *Clinical Biochemistry – Metabolic and clinic aspects*. London: Church Livingstone; 1995. p. 765-777.
6. Symonds RP: Treatment-induced mucositis: an old problem with new remedies. *Br J Cancer* 1998; 77:1689-1695.
7. Berger A, Kilroy T: Oral complications. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer. Principles and practice of Oncology*. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott 1997. p. 2714-2725.
8. Flam S: Radicais livres. In: Olszewer E, Flam S, Ellowitch S (edit.): *Radicais livres em cardiologia - Isquemia e reperfusão*. São Paulo: Tecnopress; 1997. p. 11-37.
9. Van Acker SA, Hoyman L, Bast A: Molecular pharmacology of vitamin E: structural aspects of antioxidant activity. *Free Radic Biol Med* 1993; 15: 311-328.
10. Wadleigh RG, Redman RS, Graham ML, Krasnow SH, Anderson A, Cohen MH: Vitamin E in the treatment of chemotherapy-induced mucositis. *Am J Med* 1992; 92: 481-484.
11. Lopez I, Goudou C, Ribrag V, Sauvage C, Hazebroucq G, Dreyfus F: Traitement des mucines par la vitamine E lors de l'administration d'anti-neoplastiques neutropénisants. *Ann Med Interne* 1994; 145: 405-408.
12. Felemovicius I, Bonsak ME, Baptista ML, Delaney JP: Intestinal radioprotection by vitamin E (alpha tocopherol). *Ann Surg* 1995; 222: 4,504-508.
13. Moore LE, Warner ML, Smith AH, Kalman D, Smith MT: Use of fluorescent micronucleus assay to detect the genotoxic effects of radiation and arsenic exposure in exfoliated human epithelial cells. *Environ Mol Mutagen* 1996, 27:176-184.
14. Beliën JA, Copper MP, Braakhuis BJ, Snow GB, Baak JP: Standardization of counting micronuclei: definition of a protocol to measure genotoxic damage in human exfoliated cells. *Carcinogenesis* 1995; 16, 2395-2400.

15. Zubrod CG, Scheiderman M: Appraisal of methods for the study of chemotherapy of cancer in man. *Journal of Chronic Diseases* 1960, 11:7-33.
16. UICC, União Internacional Contra o Câncer. TNM- *Classificação dos Tumores Malignos*. 5^a ed. Rio de Janeiro, Brasil, Ministério da Saúde, 1998.
17. Cox JD, Stetz J, Pajak TF: Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 31: 1341-1346.
18. Mikel UV, Fishbein WN, Bahr GF: Some practical considerations in quantitative absorbance microspectrophotometry. Preparation techniques in DNA cytophotometry. *Anal Quant Cytol Histol*, 1985; 7:107-118.
19. Countryman PI, Heddle JA: The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat Res* 1976; 41:321-332.
20. Fleiss JL: *Statistical methods for rates and proportions*. 2nd ed. New York: Wiley; 1981. p. 38-45.
21. Kaplan G, Meier P: Non-parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat* 1958; 53: 457-481.
22. Cox DR: Regression models and life tables. *J R Stat Soc* 1972; 34: 187-220.
23. Osaki T, Ueta E, Yoneda K, Hirota J, Yamamoto T: Prophylaxis of oral mucositis associated with chemoradiotherapy for oral carcinoma by Azelastine hydrochloride (Azelastine) with other antioxidants. *Head Neck* 1994; 16:331-339.
24. Empey LR, Papp JD, Jewell LD, Fedorak RN: Mucosal protective effects of vitamin E and misoprostol during acute radiation-induced enteritis in rats. *Dig Dis Sci* 1992; 37:205-214.
25. Delaney JP, Bonsak M, Hall P. Intestinal radioprotection by two new agents applied topically. *Ann Surg* 1992; 216: 417-421.
26. Shaheen AA, Hassan SM.: Radioprotection of whole body gamma-irradiation-induced alteration in some haematological parameters by cysteine, vitamin E, and their combination in rats. *Strahlenther Onkol* 1991; 167:498-501.

Table 1: Patients characteristics.

Characteristics	Number of patients per treatment				p
	group (%)				
	Vitamin E		Placebo		
SEX					0,999
Male	25	(89,3)	23	(88,5)	
Female	3	(10,7)	3	(11,5)	
AGE					0,268
Mean (SD)*	53,5 (9,1)		57,3 (15,3)		
HISTOLOGY					0,347
Squamous cell carcinoma	26	(92,8)	21	(80,8)	
Undifferentiated Carcinoma	1	(3,6)	3	(11,5)	
Lymphoepitelioma	0	(0)	1	(3,8)	
Adenoid cystic carcinoma	0	(0)	1	(3,8)	
Fibrossarcoma	1	(3,6)	0	(0)	
ANATOMICAL SITE					0,456
Nasopharynx	2	(7,1)	1	(3,8)	
Tonsil	8	(28,6)	5	(19,2)	
Base of the tongue	5	(17,8)	2	(7,7)	
Retromolar trigone	1	(3,6)	2	(7,7)	
Soft palate	0	(0)	1	(3,8)	
Oral tongue	7	(25,0)	9	(34,6)	
Floor of the mouth	4	(14,3)	3	(11,5)	
Cervical metastasis from unknown primary	1	(3,6)	3	(11,5)	
STAGE					0,142
I	0	(0)	3	(11,5)	
II	4	(14,3)	7	(26,9)	
III	5	(17,8)	4	(15,4)	
IV	19	(67,9)	12	(46,2)	
PREVIOUS SURGERY					0,840
yes	18	(64,3)	17	(65,4)	
no	10	(35,7)	9	(34,6)	
ORAL AND DENTAL EVALUATION					0,610
Normal teeth and oral mucosa	5	(17,8)	10	(38,5)	
Single alterations					
Periodontal disease	5	(17,8)	4	(15,4)	
Increased coating of the tongue	3	(10,7)	1	(3,8)	

(continues next page)

table 1 (continued)

Characteristics	Number of patients per treatment group (%)				p
	Vitamin E		Placebo		
Fibrous hyperplasia	2	(7,1)	1	(3,8)	
Gingivitis	1	(3,6)	1	(3,8)	
Multiple alterations					
Periodontal disease, carie, pericoronaritis, fibrous hyperplasia, increased coating of the tongue	8	(28,6)	4	(15,4)	
No evaluation	4	(14,3)	5	(19,2)	
SMOKING	27	(96,4)	24	(92,3)	0,603
yes					
no	1	(3,6)	2	(7,7)	
ALCOHOL					0,878
yes	21	(75,0)	20	(77,0)	
no	7	(25,0)	6	(23,0)	

Table 2: Frequency of events of severe mucositis (grades 2-4) according to the week of radiation therapy and the number of patients-week.

Week	Events of severe mucositis					
	Vitamin E group (28 pacientes)			Placebo group (26 pacientes)		
	Number of events	(%)	Patients- week	Number of events	(%)	Patients- week
1	1	(3,6)	28	0	(0)	26
2	4	(14,3)	28	7	(27,0)	26
3	8	(28,6)	28	10	(38,5)	26
4	8	(29,6)	27	11	(42,3)	26
5	5	(20,0)	25	13	(50,0)	26
6	8	(34,8)	23	9	(42,9)	21
7	2	(25,0)	8	4	(40,0)	10
TOTAL	36	(21,6)	167 (100)	54	(33,5)	161 (100)

Table 3: Density of incidences of severe mucositis (grades 2-4) in a "intention to treat" analysis (includes all randomized patients)*.

Group	Number of events		
	Severe mucositis	Patients -week	Incidence per 100 patients-week
Vitamina E	36	167	21,6
Placebo	54	161	33,5

*RR= 0,643, 95CI%= 0,42-0,98, p= 0,038

Table 4: Density of incidences of severe mucositis (grades 2-4) in a “per protocol” analysis (excludes patients with protocol violation)*.

Group	Number of events		Incidence per 100 patients-week
	Severe mucositis	Patients-week	
Vitamin E	25	156	16,0
Placebo	54	161	33,5

*Relative risk= 0,48, 95% CI= 0,30-0,76, p= 0,002

Table 5: Frequency of complications according to the treatment group*.

Complication	Treatment group**			
	Vitamina E		Placebo	
	28 patients (%)	26 patients (%)		
None	10	35,7	9	34,6
Nausea	12	42,8	10	38,5
Vomit	4	14,3	5	19,2
Fever	4	14,3	1	3,8
Candidiasis	2	7,1	4	15,4
Bleeding	2	7,1	9	34,6

*p=0,216.

**Some patients had more than one complication simultaneously.

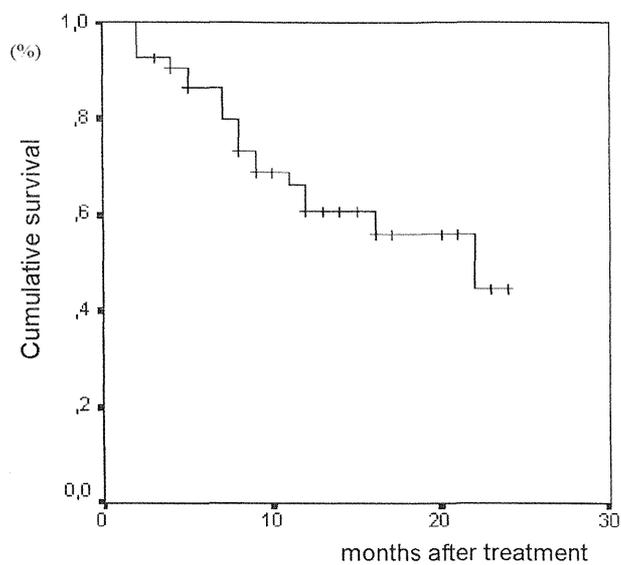


Figure 1: Absolute survival of irradiated patients with cancer of the oropharynx, nasopharynx, oral cavity and cervical metastasis from unknown primary tumor.

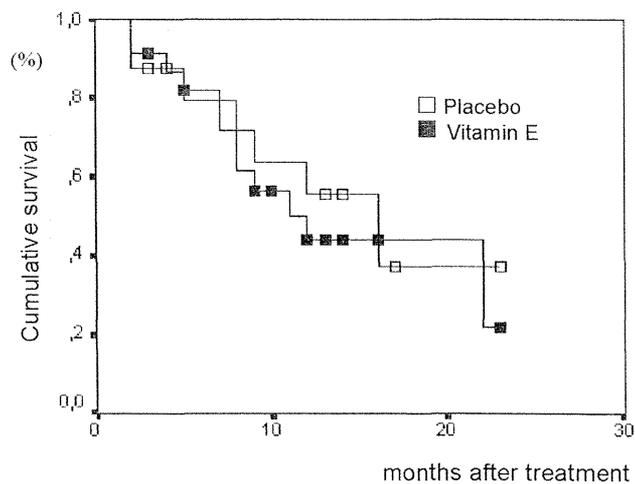


Figure 2: Absolute survivals of irradiated patients with stage III and IV cancer of the oropharynx, nasopharynx, oral cavity and cervical metastasis from unknown primary tumor according to the treatment group ($p=0.675$).

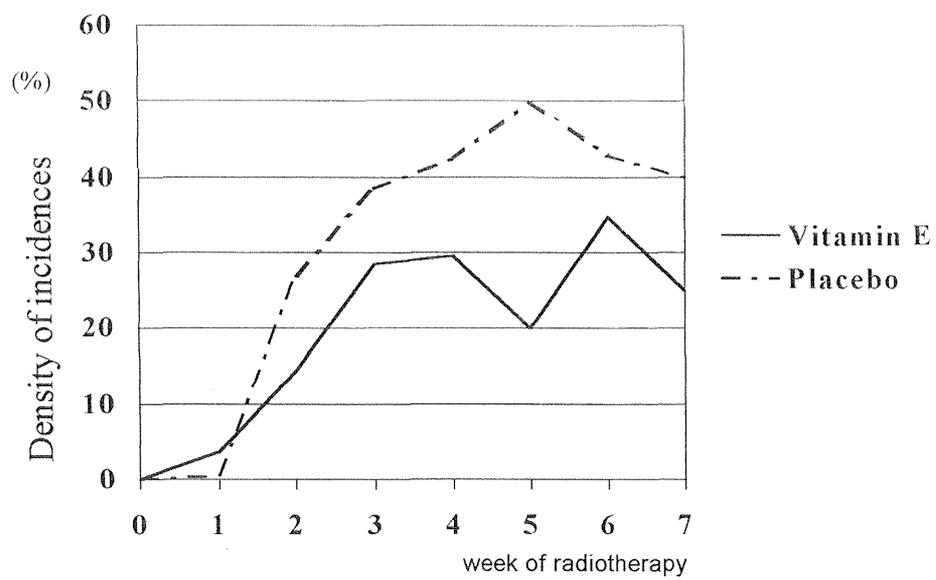


Figure 3: Density of incidences of severe mucositis according to the week of radiotherapy and group of treatment.

**TRADUÇÃO DO
ARTIGO CIENTÍFICO**

EFEITO PROTETOR DO α -TOCOFEROL (VITAMINA E) NA ESTOMATITE RADIOINDUZIDA: UM ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO E DUPLO-CEGO CONTROLADO POR ENSAIO DE MICRONÚCLEO

ABSTRACT

PURPOSE: to test if vitamin E, as a single drug, is able to provide oral mucosal protection in patients with cancer of the head and neck (CH&N) treated with radiation therapy alone (RTA) or post-operative (PORT), as well as to investigate if micronuclei assay is a predictive marker of this effect.

MATERIAL AND METHODS: patients with cancer of the oral cavity and pharynx, operated or not, were admitted. Radiation doses ranged from 50-70Gy/5-7 weeks (normal fractionation) with ^{60}Co , depending on if PORT or RTA. An oil solution containing either 400 mg of vitamin E or 500 mg of placebo was rinsed twice a day over the oral cavity. Once a week the oral cavity was inspected and the oral mucosal cells harvested for micronuclei assay. It was calculated a density of incidences of severe mucositis (grade \geq 2). All the p values were two-tailed. Values of $\alpha=0.05$, $\beta=0.20$ and power of 0.80 were utilized.

RESULTS: severe mucositis was more frequent in patients of the placebo group (54 events/161 patients-week = 33.5%) than in those of the vitamin E group (36 events/167 patients-week = 21.6%) ($p=0.038$). Vitamin E was able to reduce by 36% the risk of severe mucositis. No impact was detectable in duration of severe mucositis, weight loss and 2 year survival. Numbers of micronucleated cells had no significant differences in both arms.

CONCLUSION: This treatment seems to be effective and safe in reducing the intensity of severe radiation induced mucositis in patients with CH&N.

KEY WORDS: mucositis, radiotherapy, tocopherol (vitamin E), cancer of the head and neck

INTRODUÇÃO

Cerca de 100% dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço desenvolvem lesões na mucosa do trato aerodigestivo superior durante a radioterapia¹. Definida na língua inglesa como *mucositis*, este tipo de lesão pode ser chamado em português de estomatite radioinduzida (ERI) quando ocorre especificamente na cavidade oral. Se o dano às células da camada basal do epitélio for significativo haverá dificuldades regenerativas. Além de causar dor, esse tipo de dano pode prejudicar o controle do tumor por determinar uma diminuição na dose e interrupções no tratamento². Radicais livres gerados na água intracelular têm sido implicados no efeito biológico das radiações ionizantes³. Eles induzem o surgimento de modificações no DNA, que são incompatíveis com a sobrevivência celular caso não sejam reparados⁴, e também removem átomos de hidrogênio dos ácidos graxos da membrana celular. Esta reação, chamada de peroxidação lipídica, pode resultar em alterações na permeabilidade da membrana e, em última análise, na morte celular⁵. Algumas drogas têm sido propostas na prevenção e tratamento da ERI, tais como anti-sépticos orais, antiinflamatórios, antibióticos, antiulcerosos, prostaglandinas, fatores de crescimento hematológico, radioprotetores (tióis, vitaminas), etc.. Entretanto, a eficácia destes agentes não tem sido suficientemente comprovada^{6, 7}. O α -tocoferol (vitamina E) é o mais importante agente antioxidante natural presente no sangue humano^{8, 9}. Sua principal função biológica é a de remover o radical livre peroxil (HO_2) da membrana celular. Devido a esta capacidade de inativar os radicais livres, a vitamina E em doses supra-fisiológicas tem sido proposta como um potencial agente químico^{10, 11} e radioprotetor¹². Sob certas condições, células mitóticas contendo translocações ou quebras de cromátides provocadas pela radiação ionizante podem sofrer perturbações na distribuição da cromatina durante a anáfase. Caso não seja incorporado ao núcleo das células filhas, um fragmento deslocado de cromatina poderá tornar-se um "micronúcleo" citoplasmático. Os micronúcleos têm sido considerados como marcadores específicos na monitorização do dano genético induzido

pela radiação ionizante^{13,14}, embora eles também possam ser formados pelo efeito de carcinógenos, drogas quimioterápicas, etc. A quantidade de micronúcleos presente num tecido irradiado é proporcional ao grau de dano celular. Nosso estudo foi concebido para testar a hipótese de que a vitamina E, como droga única, é capaz de proteger a mucosa oral em pacientes com câncer de cabeça e pescoço tratados com radioterapia exclusiva ou pós-operatória, bem como de investigar se o ensaio de micronúcleos desempenharia o papel de marcador deste efeito.

PACIENTES E MÉTODOS

Seleção de pacientes

De dezembro de 1997 a dezembro de 1999, setenta e seis pacientes com diagnóstico histológico de câncer da cavidade oral, orofaringe, nasofaringe ou metástases cervicais de tumor primitivo ignorado (ou seja, tumores localizados em regiões onde uma razoável área de mucosa oral é usualmente incluída no volume de irradiação), previamente operados ou não, foram encaminhados para tratamento no Serviço de Radioterapia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul em Porto Alegre (HSL da PUCRS). Cinquenta e quatro pacientes corresponderam aos critérios de seleção, os quais consistiram de: 1) uma mínima área de mucosa oral irradiada igual ou maior que 12,2 cm² (ou 3,5 x 3,5 cm). Os limites de mensuração foram constituídos pelo bordo anterior do ramo da mandíbula (posterior), limite mais anterior do campo de tratamento (anterior), palato duro (superior) e metade da altura do corpo da mandíbula (inferior); 2) idade mínima de 21 anos; 3) desempenho de Zubrod¹⁵ (*performance status*) grau 2 ou menor e 4) não utilizar medicação anticoagulante, ausência de história prévia ou atual de outros tumores malignos, história prévia de radioterapia na cabeça e pescoço e de quimioterapia prévia ou concomitante. A avaliação inicial constou de anamnese, exame físico e otorrinolaringológico, inspeção dentária e oral, tomografia computadorizada da cabeça e pescoço, estudo radiológico do tórax e hemograma

completo. O estádio dos pacientes foi baseado na 5ª edição (1997) da classificação TNM da UICC (União Internacional Contra o Câncer)¹⁶.

Este estudo, cujos procedimentos pautaram-se pelos padrões éticos da declaração de Helsinque de 1975 revisada em 1983, foi aprovado pelos Comitês Científicos e de Bioética de ambas as instituições envolvidas na pesquisa. Todos os pacientes assinaram um consentimento informado aprovado pelos comitês de ambos os hospitais.

Planejamento da radioterapia e randomização

Todos os pacientes foram tratados numa unidade de Telecobalto 60 (Theratron Phoenix) operando a uma distância foco-pele de 80 cm. Dois campos paralelos e opostos foram planejados e executados através de blocos de proteção individuais (*cerrobend*) para incluir o tumor com uma margem de segurança de aproximadamente 2 cm ao redor, e também os linfonodos cervicais superiores, bilateralmente. Um campo anterior dirigido às fossas supraclaviculares foi adicionado caso houvesse metástases linfáticas cervicais palpáveis, ou se o tumor primário fosse localizado na rinofaringe, loja amigdaliana ou língua, devido ao maior risco de disseminação. Uma dose diária de 2 Gy/sessão/5 dias por semana foi calculada na linha média até somar 44 Gy/4,5 semanas. Uma primeira redução nos campos cervicais foi então realizada visando proteção da medula espinhal. O tratamento prosseguiu até a dose de 60 Gy, quando nova redução, limitada exclusivamente ao tumor primário com margem de 1-2 cm, foi executada. Esta configuração prosseguiu até a dose final de 70 Gy/7 semanas. Os pacientes previamente submetidos a ressecção cirúrgica completa ou parcial do tumor primário receberam doses totais de 50 Gy/5 semanas e 60 Gy/6 semanas, respectivamente, com técnica similar. Filmes de verificação foram rotineiramente utilizados após o planejamento inicial e também no controle de qualidade periódico durante todo o tratamento.

Os pacientes selecionados foram randomizados por outros colaboradores não diretamente envolvidos neste estudo, e receberam 400 mg (ou 440 U.I.) de vitamina E (Ephynal®, Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos, São Paulo, SP, Brasil) ou 500

mg de placebo (Efamol Pure Evening Primrose Oil®, Kentville, NS, Canadá). Estas drogas são disponíveis comercialmente numa solução oleosa amarela contida numa cápsula gelatinosa, a qual tinha de ser rompida na boca, misturada à saliva e banhar a cavidade oral duas vezes ao dia (a primeira vez por 5 minutos, imediatamente antes do início da sessão de radioterapia, e a segunda, após 8-12 horas no domicílio do paciente), para, então, ser deglutida. As cápsulas tinham o mesmo tamanho, aspecto, cor e textura e foram fornecidas aos pacientes em frascos reabastecidos semanalmente. A droga usada como placebo é uma combinação de ácidos graxos (oléico, linoléico, gama-linoléico, palmítico, esteárico e outros), mas contém, também, 2,5 % de vitamina E na sua composição (13 U.I. em cada cápsula de 500 mg). Pacientes e médico não conheciam a identificação das drogas utilizadas.

Avaliação da mucosa oral

Na véspera da primeira sessão de radioterapia, assim como nos encontros semanais seguintes durante todo o transcurso do tratamento, os pacientes tiveram seus pesos anotados e suas mucosas orais inspecionadas. A escala de graduação de estomatite do RTOG/EORTC (*Radiation Therapy Oncology Group/European Organization for Research and Treatment of Cancer*) foi utilizada¹⁷. Coleta de células superficiais do epitélio para pesquisa de micronúcleos foi realizada bilateralmente na área do trígono retromolar através do emprego de uma escova ginecológica. Foi obtido um esfregaço do material em duas lâminas de vidro e, então, fixado em álcool a 95°. O método de Feulgen para coloração de micronúcleos, conforme descrito por Mikel¹⁸, foi utilizado por ser específico para DNA. Todas as lâminas foram processadas no Serviço de Citopatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A frequência de micronúcleos foi estabelecida para cada 1000 células normais. Lâminas com número inferior de células foram rejeitadas. Um microscópio Zeiss, com magnificação de 20-40 vezes foi utilizado. Para ser identificado como um micronúcleo, foram adotados os critérios descritos por Countryman¹⁹. O corpúsculo candidato a micronúcleo deveria: 1) consistir de material nuclear; 2) estar

completamente separado do núcleo original; 3) ter uma área menor do que 1/5 do núcleo original; 4) ter uma intensidade luminosa, cor e textura semelhantes ao núcleo original; 5) estar posicionado a uma distância equivalente a até 4 vezes o eixo do núcleo mais próximo; 6) não estar fragmentado; 7) ser redondo ou oval e 8) estar no mesmo plano focal do núcleo.

Estatística

O principal fator em estudo foi a intensidade da ERI. Todos os pacientes randomizados foram mantidos no estudo (análise por intenção de tratar). Para os propósitos desta análise, os pacientes com ERI graus 2 a 4 foram considerados como tendo ERI grave. "Pacientes-semana" foram definidos como aqueles que se encontravam no estudo em cada semana da radioterapia, expostos ao fator (ERI) e recebendo intervenção (radioterapia e vitamina E ou placebo). Para cada paciente-semana, cada registro de ERI grave consistiu num evento. Foi calculada uma densidade de incidências de ERI grave; isto é, um quociente obtido pela divisão do número de eventos de ERI grave pelo número de pacientes-semana. Diferenças de escore de ERI grave entre os grupos vitamina E e placebo foram utilizadas para o cálculo do tamanho amostral de acordo com o método de Fleiss²⁰. Os parâmetros foram obtidos a partir de um estudo-piloto realizado com os primeiros 28 pacientes (14 em cada braço). Um nível de significância de 5% e um poder estatístico de 80% foram adotados com o intuito de testar as diferenças mínimas de incidência de pelo menos 15 eventos (*e.g.*: ERI e óbitos) para cada 100 pacientes-semana (por exemplo, 35 eventos de ERI grave/100 pacientes-semana no primeiro grupo versus 20 eventos de ERI grave/100 pacientes-semana no segundo grupo). Investigações secundárias foram realizadas visando a analisar as diferenças na sobrevida, duração da ERI grave, perda ponderal e frequência de células micronucleadas. Para o mesmo nível de significância e poder estatístico, os tamanhos amostrais estimados foram suficientes para detectar diferenças de pelo menos 10 dias na

duração da ERI grave, 11 kg para a perda ponderal e 2 células micronucleadas entre ambos os braços.

Todos os paciente perdidos no seguimento foram considerados como tendo falecido por razões atribuíveis ao câncer. Para os pacientes que não puderam ser sistematicamente seguidos no hospital após o final do tratamento, informações confiáveis foram obtidas através de correspondência ou contato telefônico com o médico encaminhador ou familiares. Fatores pré-tratamento, bem como diferenças de intensidade de ERI grave e complicações foram analisadas pelo teste Qui-quadrado de Pearson, com intervalo de confiança de 95% (C.I. 95%). O Teste t de Student e o Teste de Mann-Whitney foram utilizados para comparar diferenças entre médias e medianas, respectivamente. Estimativas de sobrevida foram obtidas pelo Método de Kaplan-Meier²¹, enquanto que as diferenças de curvas de sobrevida foram medidas pelo Teste *Log-Rank*²². Todos os valores de p foram bicaudais.

RESULTADOS

Características dos pacientes

Cento e cinquenta e um pacientes-semana foram estimados como necessários em cada braço do estudo. Como os critérios amostrais e metodológicos se mantiveram uniformes, estes 28 pacientes iniciais foram incorporados na amostra definitiva com o prosseguimento do estudo. De dezembro de 1997 a dezembro de 1999, setenta e seis pacientes com diagnóstico de câncer da cabeça e pescoço de várias localizações foram avaliados no Serviço de Radioterapia do HSL da PUCRS pelo investigador principal do estudo. Cinquenta e quatro pacientes foram considerados elegíveis. A frequência por gênero, idade, tipo histológico, localização do tumor primário, estágio, exposição a fumo e álcool e resultados da avaliação estomatológica prévia estão descritos na tabela 1. Diferenças significativas na frequência destas características não foram observadas. A maioria dos pacientes foi do sexo masculino. A idade média do grupo foi de 55,4 anos,

com desvio padrão (DP) de 12,5. O tipo histológico e a localização mais freqüentes foram o carcinoma epidermóide e a cavidade oral, respectivamente. Quarenta pacientes apresentaram tumor localmente avançado (estádios III e IV). Destes, 24/28 (85,7%) pertenciam ao grupo da vitamina E e 16/26 (61,5%) ao grupo placebo (risco relativo [R.R.] =1,39, I.C. 95%=0,99-1,96, p=0,086). A avaliação estomatológica foi realizada em 85% dos pacientes do grupo da vitamina E e em 80% dos pacientes do grupo controle.

Características do tratamento

A dose média no tumor primário e a duração da radioterapia para o grupo da vitamina E e do placebo foram de 59 Gy/5,9 semanas (DP=0,99) e 62 Gy/6,2 semanas (DP=0,75), respectivamente (p=0,350). Para ambos os grupos a área mediana de mucosa oral irradiada foi de 20,7 cm² (mínima: 12,2 e máxima: 33,8) e 22,9 cm² (mínima:12,5 e máxima: 35,0), respectivamente (p=0,176). Trinta por cento dos pacientes puderam comparecer mensalmente às revisões após o término da radioterapia. O tempo mediano de seguimento desses pacientes foi de 3 meses (mínimo: 0 e máximo: 24 meses).

Sobrevida

Em dois anos, a probabilidade mediana e absoluta de um paciente estar vivo foi de 44,8% e 9,5 meses (mínima: 2 e máxima: 24), respectivamente (figura 1). Para os pacientes do grupo da vitamina E e do placebo, estes valores foram de 32,2% e 8,5 meses (mínima:2 e máximo:24), e 62,9% e 12,5 meses (mínima: 2 e máxima: 23), respectivamente (p=0,126). Devido ao predomínio de pacientes com tumores localmente avançados no grupo da vitamina E, realizamos uma análise estratificada somente com os pacientes nos estádios III e IV (figura 2). Na mesma ordem, as sobrevidas medianas e ao final de 24 meses entre os dois grupos foram de 12 e 21,9% e 16 meses e 31,7% (p=0,675).

Intensidade da ERI, duração e perda ponderal

A ERI grave foi mais freqüente nos pacientes do grupo placebo (54 eventos/161 pacientes- semana= 33,5%) do que nos pacientes do grupo da vitamina E (36 eventos/167 pacientes-semana=21,6%), conforme a tabela 2 (RR: 0,643; I.C. 95%: 0,42-0,98; p=0,038). Foi estimado que são necessários 8,3 pacientes-semana em tratamento para que a vitamina E seja capaz de evitar um evento. Os picos de incidência de ERI grave de acordo com o grupo de tratamento foram, respectivamente para a vitamina E e placebo, na 6^a e 5^a semanas (figura 3). A duração mediana da ERI grave nos pacientes do grupo da vitamina E foi de 1 semana (mínimo= 0 máximo=5) e de 2 semanas (mínimo=0 máximo=5,0) nos pacientes do grupo placebo (p=0,102). Na véspera do início da radioterapia, o peso médio dos pacientes do grupo vitamina E foi de 60,4 kg (D.P.= 10,4) e o dos pacientes do grupo placebo, de 66,2 kg (D.P.= 14,0). Comparando-se o peso médio verificado durante o tratamento (grupo vitamina E: 55,5 kg, D.P.= 20,8; grupo placebo: 60,7 kg, D.P.=22,1), observamos que os pacientes do grupo da vitamina E apresentaram uma perda ponderal percentual de 2,35% (D.P.= 4,41) e os do grupo placebo, de 2,39% (D.P.= 2,58) (p=0,972).

Freqüência de células micronucleadas

Quinze dentre 167 lâminas (9%) de células epiteliais exfoliadas apresentando menos de 1000 células viáveis no grupo de pacientes da vitamina E e 25/161 lâminas (15,5%) do grupo placebo foram rejeitadas. O número mediano de células micronucleadas para cada 1000 células viáveis em ambos os grupos foi de 3,6 (mínimo: 1,4 e máximo: 8,5) e 3,2 (mínimo: 0,5 e máximo: 6,7), respectivamente (p=0,249).

Violação protocolar

Três pacientes do grupo da vitamina E não completaram a dose prescrita de radioterapia devido a manifestações de ERI grave (2 pacientes) e morte atribuída à

progressão do tumor (1 paciente). Uma análise “per-protocolo” (excluindo estes pacientes) foi realizada com o objetivo de detectar a influência desta violação nos resultados (tabela 4). A diminuição na intensidade da ERI tornou-se ainda mais evidente ($p=0,002$) nos pacientes do grupo vitamina E em relação à análise do tipo “intenção de tratar”.

Toxicidade

Dois terços dos pacientes em ambos os braços do estudo manifestaram efeitos colaterais detectáveis (tabela 5). Náusea foi o efeito colateral mais comum. As frequências destes efeitos não diferiram expressivamente entre os dois grupos ($p=0,216$).

DISCUSSÃO

Embora a dose e a área mediana de irradiação tenha sido maior no grupo placebo, as diferenças não foram estatisticamente significativas, e as características pré-tratamento foram consideradas uniformemente distribuídas entre os dois grupos.

A concentração de vitamina E em nosso placebo foi considerada aceitável para os propósitos deste estudo porque ela corresponde a somente 3,1% da concentração de vitamina E presente na medicação ativa. A presença de vitamina E em cápsulas de placebo foi reportada em outro estudo similar¹⁰. ERI grave foi definida como de grau 2 ou mais alto porque acarreta manifestações associadas a uma pior qualidade de vida do que as lesões grau 1. Escolhemos as doses e o modo de administração da vitamina E baseados em alguns estudos clínicos, os quais investigaram o efeito protetor dessa droga principalmente em paciente tratados com quimioterapia^{10, 11, 23}. A administração foi principalmente tópica, em doses que variaram de 200 mg até 800 mg por dia. Lopez et al¹¹ administraram vitamina E ou placebo em 19 pacientes com leucemia mielóide aguda tratada com quimioterapia. Eles encontraram uma concentração plasmática de vitamina E inesperadamente menor nos pacientes recebendo vitamina E do que nos pacientes

recebendo placebo. Esses dados sugeriram que a absorção intestinal da vitamina E não parece ser significativa, e que a ação protetora foi, principalmente, devida a um efeito local. Evidências significativas de proteção da mucosa intestinal^{12, 24, 25} e oral²⁶ foram relatadas em roedores tratados com vitamina E sistêmica ou tópica, bem como em ensaios clínicos randomizados, os quais avaliaram vitamina E em pacientes tratados com quimioterapia exclusiva¹¹ ou combinada à radioterapia na companhia de outras drogas protetoras de mucosas²³.

A ocorrência de ERI grave no grupo da vitamina E foi cerca de 64% daquela observada no grupo placebo, o que significa uma redução de 36% no risco de desenvolver ERI grave nestes pacientes. Como as diferenças na duração da ERI grave, perda ponderal e frequência de células micronucleadas foram inferiores às mínimas diferenças detectáveis pelo tamanho amostral, nosso estudo não teve poder estatístico suficiente para, conclusivamente, definir se a vitamina E foi ou não capaz de influenciar estes fatores.

Em um estudo como o nosso, a possibilidade de certas drogas potencialmente radioprotetoras estenderem seu efeito às células malignas é sempre pertinente. Sobrevida absoluta e intervalo livre de doença podem atuar como controles razoáveis deste efeito. Embora nosso estudo tenha sido desenhado para acompanhar os pacientes após o tratamento, somente 30% deles retornaram para as avaliações periódicas devido a razões socioeconômicas. Entretanto, as informações obtidas com respeito à sobrevida absoluta foram consideradas confiáveis. É improvável que a vitamina E tenha influenciado a sobrevida, uma vez que as diferenças observadas entre os braços do estudo não foram significativas.

Náusea foi mais freqüentemente referida pelos pacientes do grupo da vitamina E, ao passo que sangramento foi mais relatado pelos pacientes do grupo placebo, mas as diferenças não foram significativas. Estes dados sugerem que a vitamina E não apresentou toxicidade relevante.

CONCLUSÕES

Os pacientes tratados com vitamina E tiveram uma redução na intensidade da ERI, pois apresentaram menor frequência de estomatites graus 2 a 4 do que os pacientes do grupo placebo. Nosso estudo não teve poder estatístico suficiente para avaliar, conclusivamente, as diferenças na duração da ERI grave, perda ponderal e frequência de células micronucleadas.

A vitamina E foi administrada de modo simples, os efeitos colaterais foram de baixa toxicidade e não houve interferência significativamente na sobrevida. Consideramos a vitamina E uma droga potencialmente eficaz na proteção das membranas mucosas de pacientes portadores de tumores da cavidade oral, faringe e primitivos desconhecidos com metástases cervicais tratados com radioterapia exclusiva. Entretanto, devido ao pequeno tamanho amostral do nosso estudo, o efeito radioprotetor da vitamina E não pode ser considerado definitivamente mensurado. Novas pesquisas são necessárias para confirmar e ampliar nossos achados.

Tabela 1: Características gerais dos pacientes. Porto Alegre, RS, 2000.

Características	Número de pacientes por grupo (%)				p
	Vitamina E		Placebo		
SEXO					0,999
Masculino	25	(89,3)	23	(88,5)	
Feminino	3	(10,7)	3	(11,5)	
IDADE					0,268
Média (desvio padrão)	53,5	(9,1)	57,3	(15,3)	
HISTOLOGIA					0,347
Carcinoma epidermóide	26	(92,8)	21	(80,8)	
Carcinoma indiferenciado	1	(3,6)	3	(11,5)	
Linfoepitelioma	0	(0)	1	(3,8)	
Carcinoma adenóide cístico	0	(0)	1	(3,8)	
Fibrossarcoma	1	(3,6)	0	(0)	
LOCAL ANATÔMICO					0,456
Rinofaringe	2	(7,1)	1	(3,8)	
Loja amigdaliana	8	(28,6)	5	(19,2)	
Base da língua	5	(17,8)	2	(7,7)	
Trígono retromolar	1	(3,6)	2	(7,7)	
Palato mole	0	(0)	1	(3,8)	
Língua porção oral	7	(25,0)	9	(34,6)	
Associação da boca	4	(14,3)	3	(11,5)	
Metástases cervicais de tumor primário desconhecido	1	(3,6)	3	(11,5)	
ESTÁDIO					0,142
I	0	(0)	3	(11,5)	
II	4	(14,3)	7	(26,9)	
III	5	(17,8)	4	(15,4)	
IV	19	(67,9)	12	(46,2)	
CIRURGIA PRÉVIA					0,840
Sim	18	(64,3)	17	(65,4)	
Não	10	(35,7)	9	(34,6)	
AVALIAÇÃO ESTOMATOLÓGICA					0,610
DENTES E MUCOSA ORAL NORMAIS	5	(17,8)	10	(38,5)	
ALTERAÇÕES ISOLADAS					
Doença periodontal	5	(17,8)	4	(15,4)	
Língua saburrosa	3	(10,7)	1	(3,8)	
Hiperplasia fibrosa	2	(7,1)	1	(3,8)	
Gengivite	1	(3,6)	1	(3,8)	
ALTERAÇÕES MÚLTIPLAS					
Doença periodontal, cárie, pericoronarite, hiperp. fibrosa, língua saburrosa	8	(28,6)	4	(15,4)	
AVALIAÇÃO NÃO REALIZADA	4	(14,3)	5	(19,2)	

(continua)

Tabela 1 - continuação

Características	Número de pacientes por grupo (%)				p
	Vitamina E		Placebo		
TABAGISMO					0,603
Sim	27	(96,4)	24	(92,3)	
Não	1	(3,6)	2	(7,7)	
ETILISMO					0,878
Sim	21	(75,0)	20	(77,0)	
Não	7	(25,0)	6	(23,0)	

Tabela 2: Frequência dos eventos de ERI graus 2 a 4 em 54 pacientes de acordo com a semana da radioterapia e o número de pacientes-semana.

Porto Alegre, RS, 2000.

REGISTROS DE ERI GRAVE						
Semana	Grupo Vitamina E (28 pacientes)			Grupo Placebo (26 pacientes)		
	Número de eventos	(%)	Pacientes-semana	Número de eventos	(%)	Pacientes-semana
1	1	(3,6)	28	0	(0)	26
2	4	(14,3)	28	7	(27,0)	26
3	8	(28,6)	28	10	(38,5)	26
4	8	(29,6)	27	11	(42,3)	26
5	5	(20,0)	25	13	(50,0)	26
6	8	(34,8)	23	9	(42,9)	21
7	2	(25,0)	8	4	(40,0)	10
TOTAL	36	(21,6)	167 (100)	54	(33,5)	161 (100)

TABELA 3: Densidade de incidências de ERI grave (graus 2 a 4) conforme a “intenção de tratar” (análise de todos os pacientes randomizados)*. Porto Alegre, RS, 2000.

Grupo	NÚMERO DE EVENTOS		Incidência por 100 pacientes-semana
	ERI grave	Pacientes- Semana	
Vitamina E	36	167	21,6
Placebo	54	161	33,5

*RR= 0,643, IC95%= 0,42-0,98, p= 0,038

TABELA 4: Densidade de incidências de ERI grave (graus 2 a 4) conforme análise “per-protocolo” (exclusão dos pacientes que violaram o protocolo)*. Porto Alegre, RS, 2000.

Grupo	NÚMERO DE EVENTOS		Incidência por 100 pacientes-semana
	ERI grave	Pacientes- Semana	
Vitamina E	25	156	16,0
Placebo	54	161	33,5

*RR= 0,48, IC95%= 0,30-0,76, p= 0,002

Tabela 5: Frequência de complicações de acordo com o grupo de tratamento*. Porto Alegre, RS, 2000.

Complicação	GRUPO DE TRATAMENTO**			
	Vitamina E		Placebo	
	28 pacientes (%)	26 pacientes (%)		
Nenhuma	10	35,7	9	34,6
Náusea	12	42,8	10	38,5
Vômitos	4	14,3	5	19,2
Febre	4	14,3	1	3,8
Monilíase	2	7,1	4	15,4
Sangramento	2	7,1	9	34,6

*p=0,216.

**Alguns pacientes manifestaram mais de uma complicação simultaneamente.

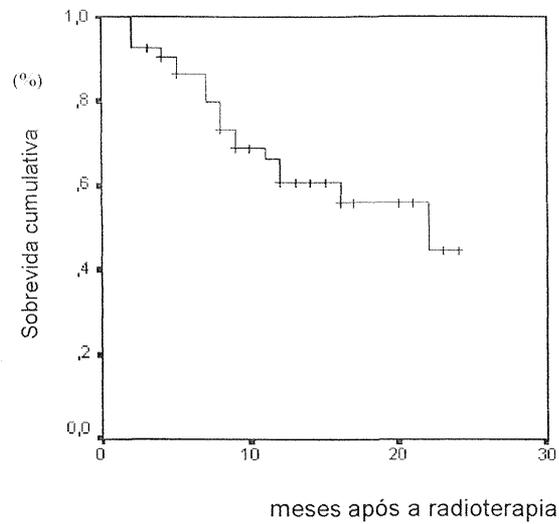


Figura 1: Sobrevivida absoluta de pacientes irradiados por câncer de orofaringe, rinofaringe cavidade oral e metástases cervicais de tumor primário não identificado.

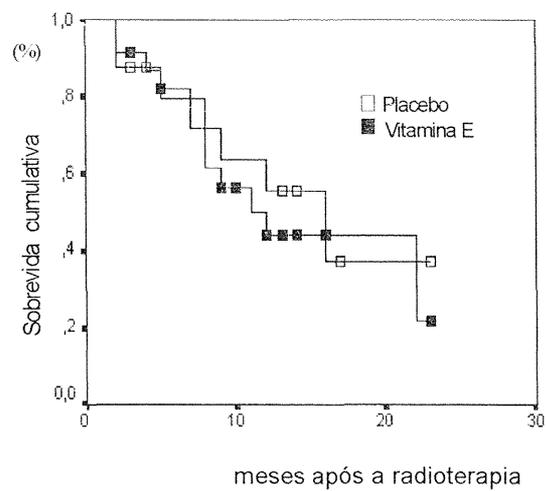


Figura 2: Sobrevivida absoluta de pacientes com câncer de orofaringe, rinofaringe cavidade oral e com metástases cervicais de tumor primário não identificado estádios III e IV, de acordo com o grupo de tratamento (p=0,675).

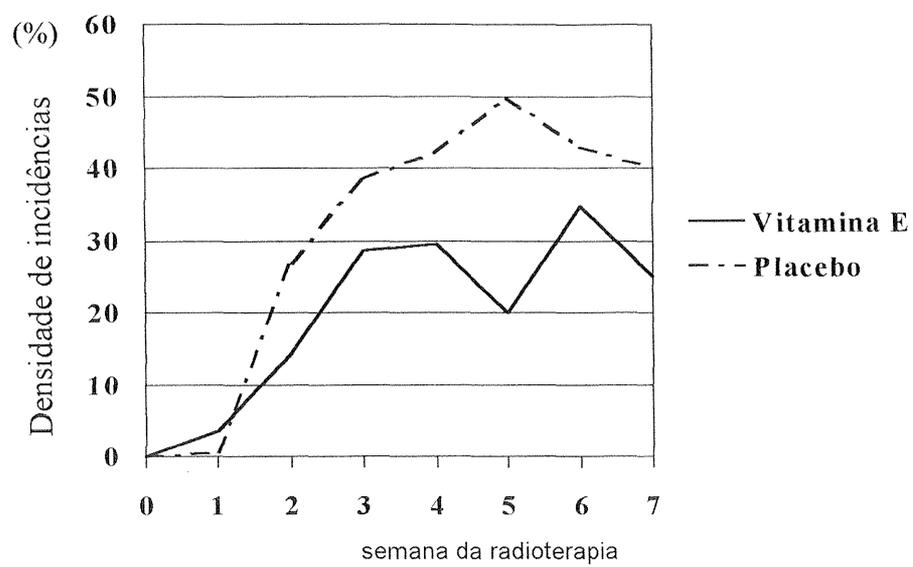


Figura 3: Densidade de incidências de ERI grave de acordo com a semana e o grupo de tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sonis ST: Oral complications of cancer therapy. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer principles and practice of Oncology*. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1993. p. 2385-2393.
2. Amdur RJ, Parsons JT, Mendenhall WM, Million RR, Cassisi NJ: Split course versus continuous irradiation in the post-operative setting for squamous carcinoma of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 17:279-285.
3. Altman KI: Radiation chemistry. In: Dalrymple GV, Gaulden ME, Kollmorgen GM, Vogel HH (edit): *Medical radiation biology*. Toronto: WB Saunders Company; 1973. p.15-29.
4. Brock WA: Kinetics of micronucleus expression in synchronized irradiated Chinese hamster ovary cells. *Cell Tissue Kinet* 1985; 18:247.
5. Ward R, Peters T: Free radicals. In: Marshal W, Bangert S (edit.): *Clinical Biochemistry – Metabolic and clinic aspects*. London: Church Livingstone; 1995. p. 765-777.
6. Symonds RP: treatment-induced mucositis: an old problem with new remedies. *Br J Cancer* 1998; 77:1689-1695.
7. Berger A, Kilroy T: Oral complications. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer. Principles and practice of Oncology*. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott 1997. p. 2714-2725.
8. Flam S: Radicais livres. In: Olszewer E, Flam S, Ellowitch S (edit.): *Radicais livres em cardiologia - Isquemia e reperfusão*. São Paulo: Tecnopress; 1997. p. 11-37.
9. Van Acker SA, Hoyman L, Bast A: Molecular pharmacology of vitamin E: structural aspects of antioxidant activity. *Free Radic Biol Med* 1993; 15: 311-328.
10. Wadleigh RG, Redman RS, Graham ML, Krasnow SH, Anderson A, Cohen MH: Vitamin E in the treatment of chemotherapy-induced mucositis. *Am J Med* 1992; 92: 481-484.
11. Lopez I, Goudou C, Ribrag V, Sauvage C, Hazebroucq G, Dreyfus F: Traitement des mucines par la vitamine E lors de l'administration d'anti-neoplastiques neutropéniants. *Ann Med Interne* 1994; 145: 405-408.
12. Felemovicius I, Bonsak ME, Baptista ML, Delaney JP: Intestinal radioprotection by

- vitamin E (alpha tocopherol). *Ann Surg* 1995; 222: 4,504-508.
13. Moore LE, Warner ML, Smith AH, Kalman D, Smith MT: Use of fluorescent micronucleus assay to detect the genotoxic effects of radiation and arsenic exposure in exfoliated human epithelial cells. *Environ Mol Mutagen* 1996, 27:176-184.
 14. Beliën JA, Copper MP, Braakhuis BJ, Snow GB, Baak JP: Standardization of counting micronuclei: definition of a protocol to measure genotoxic damage in human exfoliated cells. *Carcinogenesis* 1995; 16, 2395-2400.
 15. Zubrod CG, Scheiderman M: Appraisal of methods for the study of chemotherapy of cancer in man. *Journal of Chronic Diseases* 1960, 11:7-33.
 16. UICC, União Internacional Contra o Câncer. TNM- *Classificação dos Tumores Malignos*. 5ª ed. Rio de Janeiro, Brasil, Ministério da Saúde, 1998.
 17. Cox JD, Stetz J, Pajak TF: Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 31: 1341-1346.
 18. Mikel UV, Fishbein WN, Bahr GF: Some practical considerations in quantitative absorbance microspectrophotometry. Preparation techniques in DNA cytophotometry. *Anal Quant Cytol Histol*, 1985; 7:107-118.
 19. Countryman PI, Heddle JA: The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat Res* 1976; 41:321-332.
 20. Fleiss JL: *Statistical methods for rates and proportions*. 2nd ed. New york: Wiley; 1981. p. 38-45.
 21. Kaplan G, Meier P: Non-parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat* 1958; 53: 457-481.
 22. Cox DR: Regression models and life tables. *J R Stat Soc* 1972; 34: 187-220.
 23. Osaki T, Ueta E, Yoneda K, Hirota J, Yamamoto T: Prophylaxis of oral mucositis associated with chemoradio-therapy for oral carcinoma by Azelastine hydrochloride (Azelastine) with other antioxidants. *Head Neck* 1994; 16:331-339.
 24. Empey LR, Papp JD, Jewell LD, Fedorak RN: Mucosal protective effects of vitamin E

- and misoprostol during acute radiation-induced enteritis in rats. *Dig Dis Sci* 1992; 37:205-214.
25. Delaney JP, Bonsak M, Hall P. Intestinal radioprotection by two new agents applied topically. *Ann Surg* 1992; 216: 417-421.
 26. Shaheen AA, Hassan SM.: Radioprotection of whole body gamma-irradiation-induced alteration in some haematological parameters by cysteine, vitamin E, and their combination in rats. *Strahlenther Onkol* 1991; 167:498-501.