

# Avaliação da Presença do DNA Viral do Herpes-Vírus Humano 1 em Pacientes Portadores de Mucosite Oral

*Assessing the Presence of Viral DNA from Human Herpes Virus 1 in Patients with Oral Mucositis*

*Evaluación de la presencia del ADN viral del Herpesvirus Humano 1 en pacientes con Mucositis Oral*

Andreza Veruska Lira Correia<sup>1</sup>, Cláudia Cazal<sup>2</sup>, Jair Carneiro Leão<sup>3</sup>, Camila Maria Beder Ribeiro<sup>4</sup>, Jurema Freire Lisboa de Castro<sup>5</sup>

## Resumo

A mucosite é considerada uma afecção aguda da mucosa oral em resposta à ação citotóxica de agentes quimioterápicos e/ou radioterápicos. Representa um efeito colateral debilitante, sendo uma complicação dose-limitante que tem impacto tanto no controle local quanto na sobrevida e na qualidade de vida de pacientes oncológicos. Este trabalho teve o objetivo de correlacionar os graus de mucosite oral à presença do DNA viral do Herpes-vírus Humano 1 em pacientes portadores de carcinoma espinocelular tratados através de radioterapia convencional. A amostra foi composta por 33 pacientes portadores de neoplasia maligna de cabeça e pescoço, submetidos a tratamento radioterápico através de telerradioterapia de elétrons ou cobaltoterapia, com dose fracionada variando entre 180 e 200cGy nas áreas cervicofacial direita e esquerda e fossa supraclavicular. Foi realizada coleta de esfregaço para detecção de DNA do vírus HSV 1 através da reação em cadeia da polimerase. Os pacientes foram examinados a partir da segunda semana de tratamento, sendo acompanhados, semanalmente, até o término das aplicações, e classificados de acordo com os critérios de mucosite oral da Organização Mundial da Saúde. Dos 33 pacientes avaliados, 2 (6,1%) não apresentaram evidência clínica de mucosite, 8 (24,2%) tinham mucosite grau I, 11 (33,3%) grau II, 11 (33,3%) grau III e 1 (3,0%) grau IV. Para a amostra analisada, foram identificadas a presença do Herpes-vírus Humano 1 e vírus Epstein Barr, entretanto, esses achados não demonstraram relação estatisticamente significativa com o agravamento da mucosite oral radioinduzida.

**Palavras-chave:** Estomatite; Neoplasias Bucais; Herpes-Vírus Humano 1; Radioterapia

<sup>1</sup>Aluna do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (PE), Brasil.

<sup>2</sup>Doutora em Patologia Bucal, Professora Substituta da Universidade Federal de Pernambuco (PE), Brasil.

<sup>3</sup>Doutor em Estomatologia, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (PE), Brasil.

<sup>4</sup>Mestre em Odontologia, Aluna do Programa de Doutorado em Estomatopatologia, Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP)/Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) (SP), Brasil.

<sup>5</sup>Doutora em Estomatologia, Professora Adjunta da Universidade Federal de Pernambuco (PE), Brasil.

Parte dos resultados da dissertação de mestrado.

Endereço para correspondência: Jurema Freire Lisboa de Castro. Avenida Bernardo Vieira de Melo, 2.946 - apto. 501 - Piedade - Jaboatão dos Guararapes (PE), Brasil. CEP: 54410-010. E-mail: juremalc@terra.com.br

## INTRODUÇÃO

A mucosite oral é descrita como uma afecção aguda da mucosa oral irradiada, caracterizada por lesões ulcerativas em decorrência da atrofia do epitélio, com presença de um infiltrado inflamatório crônico persistente, eritema e dor<sup>1</sup>. Limita a fala, a mastigação e aumenta os riscos de desenvolvimento de infecções por microorganismos oportunistas<sup>2</sup>. Representa uma complicação comum e dose-limitante da terapêutica oncológica, capaz de tornar necessária a alteração ou até mesmo a interrupção do tratamento com sérias consequências à resposta tumoral e sobrevida do paciente<sup>3</sup>.

Sua etiopatogenia ainda permanece obscura. Fatores relacionados ao tratamento, como a fonte da radiação, dose acumulada, área e volume da mucosa irradiada, fracionamento; e ao paciente, como idade, sexo, estado clínico geral, condição de saúde bucal, hábitos de consumo do tabaco e do álcool, e outros fatores predisponentes, tais como: xerostomia ou infecção, têm sido apontados como fatores promotores e/ou modificadores da mucosite oral radioinduzida. Entretanto, ainda não há um consenso sobre a natureza dos fatores responsáveis pelo curso severo das mucosites orais<sup>4,5</sup>.

Muitos autores relatam que agentes biológicos, como o Herpes-vírus Humano tipo 1 (HSV 1), podem estar envolvidos com o aumento da severidade da mucosite oral induzida por tratamento antineoplásico<sup>6,7</sup>.

Diante desse contexto, o objetivo deste trabalho foi correlacionar os graus de mucosite oral à presença do DNA viral do HSV 1 em pacientes portadores de carcinoma espinocelular tratados através de radioterapia convencional.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho consistiu de um estudo clínico exploratório representado por uma amostra de conveniência.

O universo da amostra foi composto por pacientes admitidos no Centro de Radioterapia do Hospital de Câncer de Pernambuco (CERAPE), no período de julho a setembro de 2007, e submetidos a tratamento radioterápico em neoplasias malignas nas regiões de cabeça e pescoço. Trinta e três pacientes atenderam aos critérios de inclusão descritos a seguir e compuseram a população estudada.

Como critérios de inclusão, foram elegíveis, para compor a amostra, pacientes legalmente aptos, submetidos a tratamento radioterápico através do uso de teleradioterapia de elétrons (acelerador linear de 6

MV) ou cobaltoterapia (unidade de Cobalto 60) nas áreas cervicofacial direita, cervicofacial esquerda e fossa supraclavicular com dose fracionada, que variou de 180 a 200 cGy/dia, estando, no mínimo, na segunda semana de tratamento antineoplásico, período suficiente para o surgimento da mucosite clinicamente detectável<sup>8,9</sup>.

Como critérios de exclusão, foram excluídos da pesquisa os pacientes submetidos concomitantemente a tratamento quimioterápico, os indivíduos portadores de doenças sistêmicas - diagnosticadas previamente ao tratamento antineoplásico - ou que fizessem uso de medicamentos que pudessem alterar o fluxo salivar normal, drogas imunossupressoras, bem como os que não aceitaram sua participação na pesquisa.

Este projeto foi encaminhado previamente à sua execução para apreciação e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Pernambuco, tendo sido aprovado sob o número de protocolo 032/2006.

Para preservar a identidade do paciente, no formulário de coleta de dados, foram indicados somente as iniciais do nome do pacientes e um número de registro, que foi vinculado ao número do prontuário, cuja utilização se justifica na necessidade de checagem de dados para os exames laboratoriais. Foram seguidos todos os aspectos éticos específicos estabelecidos pelas diretrizes e normas da Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde. Todos os pacientes foram informados sobre os objetivos do trabalho, bem como sobre a metodologia, tendo assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A avaliação clínica da mucosite constituiu da observação clínica da mucosa bucal, que foi avaliada em intervalos semanais a partir da segunda semana de radioterapia, seguindo-se até o término do tratamento. Para avaliação da mucosite, foi utilizada a escala de toxicidade oral da Organização Mundial da Saúde (OMS), que categoriza a mucosite oral como ausente (grau 0 - mucosa e tecido gengival úmidos e róseos); grau I (descoloração, aspecto esbranquiçado, possibilitando dieta normal); grau II (eritema, possibilitando dieta normal); grau III (pseudomembrana, requerendo dieta líquida); e grau IV (ulceração profunda, com impossibilidade de ingestão oral - suporte nutricional)<sup>3</sup>. O exame clínico foi realizado através de inspeção visual com uso de abaixador de língua descartável e luz natural.

Com o objetivo de verificar a presença do HSV 1, amostras de raspados citológicos foram obtidas segundo técnica utilizada por Mendonça (2008)<sup>10</sup>. Com o auxílio de escova ginecológica estéril (Kolplast® Comercial Industrial do Brasil Ltda), a mucosa oral de borda lateral

de língua, mucosa labial e mucosa jugal na região dos molares até incisivos foram raspadas bilateralmente pelo profissional pesquisador e, posteriormente, acondicionadas em tubo de ensaio cônico estéril adicionado de 3mL de solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%). Os tubos foram marcados com número de registro e identificação do paciente. O material foi acondicionado em vasilha térmica contendo gelo picado durante o período de transporte até o local de armazenagem definitiva, onde foi submetido a congelamento em refrigerador a uma temperatura de -20°C até o início dos processos de extração e amplificação do DNA viral.

Apenas uma amostra por paciente foi obtida, tendo sido realizada durante a segunda semana de tratamento radioterápico, haja vista essas manifestações ocorrerem a partir desse momento.

As amostras foram identificadas e os seus DNAs foram extraídos com o kit de extração e purificação de DNA GeneClean® (GENECLEAN® Kit, BIO 101, La Jolla, CA), adaptado de acordo com o protocolo sugerido por Leão *et al*<sup>11</sup>. Nesta etapa, os materiais clínicos coletados foram centrifugados a 5.000 RPM por cinco minutos, o sobrenadante descartado e o sedimento (*pellet*) foi ressuscitado em 400µL de NaI. Para a extração do DNA, foram adicionados 10µL de *Glass Milk* e deixados à temperatura ambiente por cinco minutos, agitando-se de vez em quando. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1.400 RPM por cinco minutos e o sobrenadante descartado. Foram adicionados 500µL de *New Wash* e posteriormente centrifugados a 1.400 RPM por cinco minutos, esta etapa foi realizada duas vezes perfazendo um total de duas lavagens. Os sobrenadantes finais foram descartados e incubados a 55°C por cinco minutos no *Cool Block* (Calor Seco). Após esta etapa, foram adicionados 20 µL água livre de nuclease (Promega® Madison, WI, EUA), misturando o precipitado com a pipeta. As amostras foram levadas à centrifuga a 1.400

RPM por cinco minutos, e o sobrenadante que continha o DNA foi extraído cuidadosamente e transferido para um novo *ependorff* devidamente identificado para ser estocado a -20°C, até ser utilizado na reação de amplificação.

Na reação de amplificação (Nested PCR), foi utilizado no 1° *round* em multiplex com os *primers consensus* DFA, ILK e KG1 e um 2° *round* com os *primers consensus* IYG e TGV<sup>12</sup> (Quadro 1). Como controle interno, foi utilizado, em multiplex, um par de oligonucleotídeos designado a amplificar o gene da β-globina, com a finalidade de demonstrar a adequada extração do DNA e condições da reação em cadeia da polimerase (PCR), excluindo, desse modo, resultados de falso-negativos.

A reação de amplificação foi realizada em um volume final de 50µL, sendo constituída por 5 µL de tampão (1%), 2,5 µL de DMSO (5%), 1,0 µL de desoxinucleotídeos fosfatados (dNTP), 2µL do *primer mix*, 0,2 µL de TaqPolimerase, 34,3 µL de água milliQ e 5 µL de DNA (para o 1° *round*). Para o 2° *round*, os 5 µL de DNA utilizados no 1° *round* foram substituídos por 5 µL do produto da 1ª reação. Para o gene da β-globina, as condições para a reação da PCR foram as seguintes: 100-200 ng do DNA da amostra de HSV 1, uma vez diluído (1X) do tampão da Taq DNA polimerase, 0,3 µM do oligonucleotídeo, 1U da Taq DNA polimerase, para uma reação com volume final de 25µL<sup>10</sup>.

A relação dos parâmetros dos ciclos da PCR para a amplificação do HSV e do gene da β-globina, com definição da temperatura e tempo de desnaturação inicial (*hot start*), número de ciclos, temperatura e tempo das etapas de cada ciclo (desnaturação, ligação e extensão), temperatura e tempo da extensão final, estão descritas no quadro 2.

Para a análise do produto da PCR, uma alíquota de 10mL da reação de cada amostra da PCR foi separada em gel de agarose 2% por eletroforese horizontal a 100V, em tampão TBE 1X (tris+ácido bórico 0,089M e EDTA

Quadro 1. Sequência do oligonucleotídeos para os HSV vírus

| Vírus     | Oligonucleotídeos | Sequência (5' → 3')           |
|-----------|-------------------|-------------------------------|
| HSV       | DFA               | GAYTTYGCNAGYYTNTAYCC          |
|           | ILK               | TCCTGGACAAGCAGCARNYSGCNMTAA   |
|           | KG1               | GTCTTGCTCACCAGNTCNACNCCYTT    |
|           | IYG               | CACAGAGTCCGTRTCNCCRTADAT      |
|           | TGV               | TGTAACTCGGTGTAYGGNTTYACNGGNGT |
| β-globina | PCO3              | CTTCTGACACAACACTGTGTTCACTAGC  |
|           | PCO4              | TCACCACCAACTTCATCCAGCTTCACC   |

Quadro 2. Parâmetros dos ciclos da PCR e tamanho do fragmento amplificado, para a identificação do HSV e do gene da  $\beta$ -globina

| Parâmetros dos ciclos de PCR |          |    |        |              |      |         |    |          |        |                |     |           |
|------------------------------|----------|----|--------|--------------|------|---------|----|----------|--------|----------------|-----|-----------|
| Vírus                        | Hot star |    | Ciclos | Desnaturação |      | Ligação |    | Extensão |        | Extensão final |     | Fragmento |
|                              | °C       | T  |        | °C           | T    | °C      | T  | °C       | T      | °C             | T   |           |
| HSV                          | 94       | 3' | 40     | 94           | 30'' | 48      | 1' | 72       | 1'     | 72             | 7'  | 280       |
| $\beta$ -globina             | 94       | 5' | 35     | 94           | 1'   | 55      | 1' | 57       | 1'30'' | 72             | 10' | 123       |

0,02M). Os géis foram corados com brometo de etídio (0,5 $\mu$ g/mL), para visualização em transluminador de luz ultravioleta. A determinação do tamanho dos fragmentos da PCR amplificados (280 pb) foi realizada por comparação com o marcador de peso molecular "1 kb DNA Ladder Promega® 500 microlitros (100 lanes)" e controle positivo do agente viral estudado. A documentação dos resultados foi feita através do sistema fotográfico EDAS 290 da KODAK®.

As amostras amplificadas através dos *primers consensus* foram sequenciadas através do kit de reação *Applied Biosystems ABI PRISM® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Applied Biosystems, Foster City, CA)* em um sequenciador automático *Applied Biosystems ABI PRISMA®* modelo 3.700 (*Perkin-Elmer*) e seus resultados incluídos no *Genbank Nucleotide Database*.

Para análise dos dados, foram obtidas distribuições absolutas e percentuais para as variáveis qualitativas ou a variável faixa etária e as medidas estatísticas: média, mediana e desvio-padrão para a variável idade. Foi utilizado o teste estatístico Exato de Fisher para correlacionar grau de mucosite oral à presença do agente viral. A margem de erro utilizada na decisão dos testes estatísticos foi de 5,0%.

Os dados foram digitados na planilha Excel e o *software* estatístico utilizado para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* na versão 13.

## RESULTADOS

A amostra foi caracterizada por 33 pacientes que atenderam aos critérios de inclusão, sendo 27 (81,8%) do sexo masculino e 6 (18,2%) do sexo feminino. As idades variaram de 40 a 96 anos com média de 64,79 anos, desvio-padrão de 12,81 anos e mediana de 65,00 anos. A maioria dos pacientes (63,6%) tinha de 61 a 96 anos (tabela 1).

Todos os pacientes foram submetidos à radioterapia convencional. Os diagnósticos histopatológicos, localização e estadiamento do tumor, tipos e doses de radiação podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1. Distribuição de dados segundo idade e gênero dos pesquisados, diagnóstico histopatológico, localização, estadiamento do tumor, tipo de aparelho utilizado na radioterapia e dose utilizada

| Variável                                    | N         | %            |
|---|-----------|--------------|
| <b>• Idade</b>                              |           |              |
| 40 a 60                                     | 12        | 36,4         |
| 61 a 96                                     | 21        | 63,6         |
| <b>• Gênero</b>                             |           |              |
| Masculino                                   | 27        | 81,8         |
| Feminino                                    | 6         | 18,2         |
| <b>• Diagnóstico histopatológico</b>        |           |              |
| CEC   | 31        | 94,0         |
| Carcinoma <i>in situ</i>                    | 1         | 3,0          |
| Tumor de células claras                     | 1         | 3,0          |
| <b>• Localização</b>                        |           |              |
| Língua                                      | 9         | 27,3         |
| Assoalho                                    | 6         | 18,2         |
| Rinofaringe                                 | 5         | 15,2         |
| Laringe                                     | 3         | 9,1          |
| Palato                                      | 3         | 9,1          |
| Orofaringe                                  | 1         | 3,0          |
| Seio piriforme                              | 2         | 6,1          |
| Trígono retromolar                          | 1         | 3,0          |
| Parótida                                    | 1         | 3,0          |
| Seio maxilar                                | 1         | 3,0          |
| Glândula submandibular                      | 1         | 3,0          |
| <b>• Estadiamento do tumor</b>              |           |              |
| 0   | 1         | 3,0          |
| II  | 2         | 6,1          |
| III   | 2         | 6,1          |
| IVa   | 12        | 36,4         |
| IVb   | 3         | 9,1          |
| Não informado                               | 13        | 39,3         |
| <b>• Aparelho utilizado para a radiação</b> |           |              |
| Acelerador linear                           | 11        | 33,3         |
| Cobalto 60                                  | 22        | 66,7         |
| <b>• Dose</b>                               |           |              |
| 180   | 25        | 75,8         |
| 200   | 8         | 24,2         |
| <b>TOTAL</b>                                | <b>33</b> | <b>100,0</b> |

Fonte: Hospital de Câncer de Pernambuco

Entre os pacientes estudados, 93,9% apresentaram algum grau de mucosite, sendo que, em 36,4% dos casos, a mucosite foi categorizada como grave (33,3%, mucosite grau III e 3% grau IV). Foram classificados como grau II 33,3% e 24,2% como mucosite grau I. A ausência de alteração na mucosa bucal foi observada em 6,1% da amostra. As figuras 1 e 2 ilustram os aspectos clínicos da mucosite graus II e III em pacientes da amostra.



Figura 1. Imagem de paciente apresentando quadro de mucosite oral grau II

Fonte: Hospital de Câncer de Pernambuco



Figura 2. Imagem de paciente apresentando quadro de mucosite oral grau III

Fonte: Hospital de Câncer de Pernambuco

Os resultados da amplificação do DNA viral através da PCR demonstraram que quatro dos 33 pacientes avaliados apresentaram positividade para algum membro da família *Herpesviridae*. As figuras 3 e 4 ilustram gel de agarose com amplificação do DNA viral.

O sequenciamento do DNA evidenciou que das quatro amostras positivas, três apresentaram positividade

para o herpes tipo 4 (Epstein Barr - EBV) e que apenas um dos 33 pacientes avaliados (3,0%) apresentou a expressão do DNA viral do HSV 1 no raspado citológico obtido. Destes, um paciente positivo para EBV apresentou mucosite grau I e os demais apresentaram mucosite grau III.

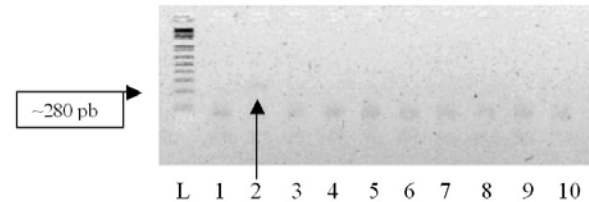


Figura 3. Gel de agarose a 2% exibindo banda de amplificação para família *Herpesviridae*. O gel foi obtido antes do sequenciamento com uso de *primers* degenerados

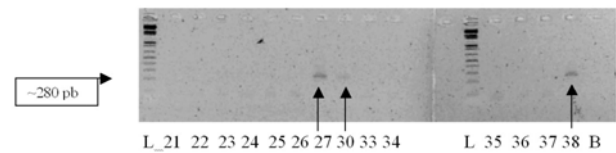


Figura 4. Gel de agarose a 2% exibindo banda de amplificação para família *Herpesviridae*. O gel foi obtido antes do sequenciamento com uso de *primers* degenerados

## DISCUSSÃO

Em contraste aos relatos escassos e conflitantes referente à atuação do HSV 1 durante a radioterapia, essa infecção tem sido amplamente estudada durante a quimioterapia imunossupressiva, bem como durante o transplante de células tronco hematopoiéticas, sendo considerado um importante componente da mucosite induzida por quimioterapia, com incidência de 60%<sup>6,13,14</sup>. Esses resultados podem ser explicados pela imunossupressão experimentada por esses pacientes como importante papel na reativação do HSV 1. A amostra representada em nosso estudo foi composta por pacientes que, em sua maioria, apresentavam índices satisfatórios de saúde geral, sem evidências clínicas ou laboratoriais de imunossupressão importante, fato que poderia explicar o baixo índice de reativação do HSV 1 no grupo de pacientes estudados. Além disso, o tratamento quimioterápico inclui frequentemente em seus protocolos o uso de agentes imunossupressores tais como corticosteroides<sup>15</sup>, drogas raramente utilizadas em programas de radioterapia.

Ademais, durante os períodos de latência, não há expressão de proteínas virais necessárias para a replicação do DNA<sup>16</sup>, o que poderia, em parte, esclarecer a baixa positividade do DNA do HSV 1 na população pesquisada nesse estudo.

Embora estudos soropidemiológicos apontem que mais de 90% da população mundial, especialmente a partir da quarta década de vida, possuam anticorpos séricos contra pelo menos uma das cepas de HSV<sup>17</sup>, apenas 40% desses indivíduos possuem sensibilidade para desenvolverem manifestações herpéticas secundárias<sup>18</sup>. Para Wade<sup>19</sup>, apenas 10% a 20% dos pacientes infectados se definem como portadores do herpes simples; e até 60% dos indivíduos com sorologia positiva para o HSV apresentam quadros assintomáticos ou oligossintomáticos não reconhecidos pelos próprios pacientes. Nenhuma ocorrência de infecção primária ou recorrente por HSV foi observada durante o estudo, no entanto, 18,1% dos pesquisados referiam ter experimentado, em algum momento, quadros de herpes simples recorrente, fato que denota a necessidade de maiores informações sobre essa importante e prevalente afecção.

Rand *et al.*<sup>20</sup>, Nicolatou-Galitis *et al.*<sup>7,21</sup> e Oakley *et al.*<sup>22</sup> relataram em seus estudos uma correlação positiva entre a ocorrência de mucosite oral severa e a presença do HSV 1. Entretanto, Redding *et al.*<sup>23</sup> e Bublely *et al.*<sup>15</sup> não obtiveram uma correspondência entre a presença do vírus HSV 1 e os graus de severidade da mucosite oral, como também não obtiveram resposta satisfatória quando do emprego de agentes antivirais nas populações estudadas.

Uma explicação para a discrepância desses achados pode ser encontrada na população de pacientes envolvidos. A maioria dos estudos que refere o HSV 1 como cofator no agravamento das lesões de mucosite envolve pacientes submetidos a esquemas quimioterápicos que incluem drogas imunossupressoras, com possível surgimento de neutropenia. A utilização de agentes antifúngicos pode também, através de uma redução na ocorrência de candidose bucal, diminuir a possibilidade de erro diagnóstico entre a mucosite oral e a candidose nesses grupos de pacientes. Por outro lado, dificuldades técnicas, na obtenção de cultura viral utilizada na maioria dos estudos, podem ser apontadas como hipótese para a baixa positividade da presença do HSV 1 em raspados citológicos obtidos de ulcerações de pacientes submetidos a tratamento antineoplásico.

Neste estudo, não se verificou associação significativa entre a presença de infecção por HSV 1 e os quadros graves de mucosite oral radioinduzida, sugerindo que a infecção recorrente de HSV não é uma causa ou um cofator principal de lesões da boca na maioria de pacientes que recebem esses protocolos de tratamento para o câncer da cabeça e do pescoço.

Um achado ocasional foi a presença do DNA viral do EBV em três pacientes, cujos diagnósticos histopatológicos e localização eram de carcinoma espinocelular em palato, língua e orofaringe. O vírus

EBV é um vírus da família *Herpesviridae*, que causa a mononucleose infecciosa em humanos. Existe forte correlação entre a infecção latente pelo EBV e o desenvolvimento de diversos tumores malignos, como o linfoma de Burkitt, a doença de Hodgkin, o linfoma B e o carcinoma nasofaríngeo. Há, também, evidências de que o EBV possa estar associado a outras neoplasias malignas, principalmente a carcinomas gástricos, carcinomas mamários, leiomiossarcomas, linfomas T e carcinomas linfoepitelioma-like de glândulas salivares, pulmão e timo. Proteínas expressas pelo EBV atuam diretamente, como oncogene, estimulando a proliferação das células infectadas. Além disso, o DNA viral, ao integrar-se ao genoma do hospedeiro, pode causar mutações em genes reguladores do ciclo celular, sobretudo no gene supressor tumoral, p53, favorecendo o surgimento de células neoplásicas<sup>24</sup>. Apesar de nenhuma descrição da literatura correlacionar a presença desse vírus no agravamento da mucosite oral radioinduzida, não se descarta a sua participação como cofator em pacientes imunossuprimidos.

## CONCLUSÃO

A presença dos vírus HSV 1 e EBV não foi relacionada com a manifestação clínica de mucosite oral radioinduzida apresentada pelos pacientes que compuseram esta amostra. Dessa forma, torna-se de fundamental importância a compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos na etiopatogenia e do agravamento da mucosite oral radioinduzida, com o objetivo de contribuir para a indicação de terapias eficazes na prevenção e manejo dessa importante afecção.

## AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus sinceros agradecimentos ao Dr. Ernesto Roesler e à equipe do CERAPE, à Dra. Regina Mendonça, à Dra. Marcela de Araújo e ao Centro Infantil de Investigações Hematológicas Dr. Domingos A. Boldrini, pelo apoio técnico inestimável.

**Declaração de Conflito de Interesses: Nada a Declarar.**

## REFERÊNCIAS

1. Magalhães MHCG, Candido AP, Araújo NS. Sequelas bucais do tratamento radioterápico em cabeça e pescoço - protocolo de prevenção e tratamento. Revista de Pós-Graduação (USP), IMC 2002; 9(1):7-11.
2. Spijkervet FK, Van Saene HK, Panders AK, Vermey A, Mehta DM. Scoring irradiation mucositis in head and neck cancer patients. J Oral Pathol Med 1989;18(3): 167-71.

3. Kelner N, Castro JFL. Laser de baixa intensidade no tratamento da mucosite oral induzida pela radioterapia: relato de casos clínicos. *Revista brasileira de cancerologia* 2007;53(1): 29-33.
4. Dib LL, Gonçalves RCC, Kowalsky LP, Salvajoli JV. Abordagem multidisciplinar das complicações orais da radioterapia. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2000;54(5):391-6.
5. Antonio AMMP, Maia FAZ, Dias RB. Reações adversas da radioterapia: cuidados pré, trans e pós operatório. *Revista Odonto* 2001; 9(19):12-9.
6. Carrega G, Castagnola E, Canessa A, et al. Herpes simplex virus and oral mucositis in children with cancer. *Support Care Cancer* 1994;2:266-9.
7. Nicolatou-Galitis O, et al. Herpes simplex virus-1 (HSV-1) infection in radiation-induced oral mucositis. *Support Care Cancer* 2006;14:753-62.
8. Cardoso MFA, Novikoff S, Tresso A, Segreto RA, Cervantes O. Prevenção e controle das sequelas bucais em pacientes irradiados por tumores de cabeça e pescoço. *Radiologia brasileira* 2005;38(2):107-15.
9. Bonan PRF, Lopes MA, Alves FA, Almeida OP. Aspectos clínicos, biológicos, histopatológicos e tratamentos propostos para a mucosite oral induzida por radioterapia: revisão da literatura. *Revista brasileira de cancerologia* 2005;51(3):235-42.
10. Mendonça RMH. Associação entre a presença de microorganismos da microbiota oral e a intensidade da mucosite oral, em pacientes pediátricos com Leucemia Linfóide Aguda, submetidos ao tratamento antineoplásico. [tese]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas; 2008.
11. Leão JC, Hinrichsen SL, Freitas BL, Porter SR. Human herpes virus 8 and Kaposi's sarcoma. *Rev Assoc Med Bras* 1999; 45(1): 55-62.
12. Van Devanter DR, Warrener P, Bennett L, Schultz ER, Coulter S, Garber RL, Rose TM. Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR. *J Clin Microbiol* 1996; 34(7):1666-71.
13. Epstein JB, Sherlock C, Page JL, et al. Clinical study of herpes simplex virus infection in leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;70:38-43.
14. Schubert MM, Peterson DE, Flournoy N, et al. Oral and pharyngeal herpes simplex virus infection after allogeneic bone marrow transplantation: analysis of factors associated with infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;70:286-93.
15. Bublely GJ, Chapman B, Chapman SK, Crumpacker CS, Schnipper LE. Effect of acyclovir on radiation- and chemotherapy-induced mouth lesions. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33(6):862-5.
16. Wagner EK, Guzowski JF, Singh J. Transcription of the HSV genome during productive and latent infection. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1995;51: 123-65.
17. Lupi O, Silva AG, Pereira AC. Herpes simples genital: uma pandemia. *An Bras Dermatol* 1996;71(1):59-61.
18. Woo S, Lee SF. Oral recrudescence herpes simplex virus infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;83(2):239-43.
19. Wade JC, Newton B, Flournos N, Myers JD. Oral acyclovir for prevention of herpes simplex virus reactivation after bone marrow transplantation. *Ann Intern Med* 1989; 33:823-8.
20. Rand K, Kramer B, Johnson A. Cancer chemotherapy associated symptomatic stomatitis: role of herpes simplex virus. *Cancer* 1982;50:1262-5.
21. Nicolatou-Galitis O, Dardoufas K, Markoulatos P, et al. Oral pseudomembranous candidiasis, herpes simplex virus-1 infection, and oral mucositis in head and neck cancer patients receiving radiotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) mouthwash. *J Oral Pathol Med* 2001;30:471-80.
22. Oakley C, Epstein JB, Sherlock CH. Reactivation of oral herpes simplex virus. Implications for clinical management of herpes simplex virus recurrence during radiotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997;84:272-8.
23. Redding SW, Luce EB, Boren MW. Oral herpes simplex virus infection in patients receiving head and neck radiation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 69:578-80.
24. Silva AR, Zucoloto S. O papel do vírus Epstein-Barr na tumorigênese humana. *Medicina* 2003;36:16-23.

### **Abstract**

Mucositis is an acute inflammation of the oral mucosa in response to the cytotoxic action of chemotherapy and/or radiotherapy regimens. It is a debilitating side effect and a dose-limiting complication that impact on local control and survival rate as well as on the quality of life of cancer patients. This study aimed to correlate the degree of oral mucositis to the presence of Human Herpes Virus 1 DNA in patients with squamous cell carcinoma treated through conventional radiotherapy. The sample was made up of 33 patients with malignant tumors of the head and neck submitted to radiotherapy treatment through either electron teleradiotherapy or cobalt therapy, with fractioned dose ranging from 180 to 200cGy on the right and left cervical-facial regions and supraclavicular fossa. Swabs were collected in order to detect Human Herpes Virus 1 DNA using polymerase chain reaction assays. Patients were examined beginning with the second week of therapy and were followed up on a weekly basis until the end of treatment and classified for oral mucositis criteria according to the World Health Organization. Among the 33 patients evaluated, 2 (6.1%) showed no clinical evidence of mucositis; 8 (24.2%) had Grade I mucositis; 11 (33.3%) had Grade II; 11 (33.3%) had Grade III; and one (3.0%) had Grade IV. Human Herpes Virus 1 and Epstein Barr virus were identified in the sample analyzed. However, these findings demonstrated no statistically significant correlation to the exacerbation of radio-induced oral mucositis.

**Key words:** Stomatitis; Mouth Neoplasms; Herpesvirus 1, Human; Radiotherapy

### **Resumen**

La mucositis es considerada una afección aguda de la mucosa oral en respuesta a la acción citotóxica de agentes quimioterápicos y/o radioterápicos. Representa un efecto colateral debilitante y una complicación dosis-limitante, que tiene impacto tanto en el control local como en la supervivencia y en la calidad de vida de los pacientes oncológicos. Este trabajo tuvo como objetivo la correlación de los grados de la mucositis oral con la presencia del ADN viral del Herpesvirus Humano 1 en pacientes con carcinoma espinocelular tratados con radioterapia convencional. La muestra se compuso de 33 pacientes portadores de neoplasia maligna de cabeza y cuello sometidos a tratamiento radioterápico a través de telerradioterapia de electrones o cobaltoterapia, con dosis fraccionada variando entre 180 y 200cGy en el área cérvico-facial derecha e izquierda y la fosa supraclavicular. Fue realizada una colecta de frotamiento para detectar el ADN del virus HSV 1 por reacción en cadena de la polimerasa. Los pacientes fueron examinados a partir de la segunda semana de tratamiento y fueron seguidos por todas las semanas hasta el final de las aplicaciones, y clasificados de acuerdo a los criterios de la mucositis oral de la Organización Mundial de la Salud. De los 33 pacientes evaluados, 2 (6,1%) no presentaron evidencia clínica de mucositis, 8 (24,2%) presentaron mucositis grado I, 11 (33,3%) grado II, 11 (33,3%) grado III y 1 (3,0%) grado IV. Para la muestra analizada se identificó la presencia del herpesvirus humano 1 y virus de Epstein Barr, sin embargo, esos hallazgos no demostraron relación estadísticamente significativa con el agravamiento de la mucositis oral radioinducida.

**Palabras clave:** Estomatitis; Neoplasias de la Boca; Herpesvirus Humano 1; Radioterapia