

Novas perspectivas e técnicas de dosagem do monitoramento de Bulssufano sérico



Cristina Vogel
Hospital Israelita Albert Einstein



INTRODUÇÃO

Bussulfano (Bu):

- Agente alquilante de DNA;
- Condicionamento de TCTH com bons resultados;
- O Bu é adm por via oral, mas tem sido utilizado também por via endovenosa, a qual minimiza a toxicidade e as variações individuais de biodisponibilidade da droga;
- Para maior eficácia do Bu é necessária a monitorização terapêutica individual da dose (análise da concentração do Bu sérico a partir de 7 a 12 amostras de sangue, pelas quais são feitos ajustes individuais). Essa coleta, contudo, é onerosa e gera ansiedade nos pacientes.



INTRODUÇÃO

Saliva:

- É uma secreção exócrina de células especializadas;
- Alternativa para a monitorização terapêutica de diversas drogas, pois vários estudos farmacocinéticos têm demonstrado que as concentrações dos fármacos no plasma têm alta correlação com as observadas na saliva;
- Com relação ao Bu, um estudo com pacientes sob condicionamento quimioterápico para TCTH demonstrou, para o Bu administrado por via oral, que a concentração na saliva tem excelente correlação com a concentração plasmática em todos os momentos de análise. Os autores concluíram que a saliva é uma matriz adequada à monitorização terapêutica do Bu.



(Raju et al. 2013 et al.; Rauh et al., 2006)

OBJETIVO

Geral:

- Verificar a viabilidade de se utilizar a saliva como fluido analítico das concentrações do Bu durante ajuste farmacocinético individual em pacientes sob TCTH, bem como verificar as alterações dos constituintes salivares e o perfil de mucosite oral induzidas pelo condicionamento com esse quimioterápico.



PACIENTES E MÉTODO

Características do estudo

- Prospectivo, observacional, não-randomizado.

Grupos de pacientes

- Pacientes do Centro de TMO do HIAE, divididos em 2 grupos:
 - ✓ Grupo Bussulfano - pacientes de TCTH cuja combinação de drogas inclui o Bu;
 - ✓ Grupo não-Bussulfano - pacientes de TCTH cuja combinação de drogas não inclui o Bu. Serão incluídos pacientes sob regime de condicionamento mieloablativo incluindo, dentre outros, TBI, ciclofosfamida e melfalano.



PACIENTES E MÉTODO

Critérios de inclusão

- Ambos os sexos, idade entre 3 e 70 anos, que finalizem todo o procedimento do transplante

Critérios de exclusão

- Pacientes que exibam fluxo salivar que não permita a coleta adequada, pacientes os quais não se consiga coletar a saliva em todos os períodos experimentais e pacientes com infecções bucais ativas (fúngicas, virais ou bacterianas).

Estimativa do número de pacientes

- Realizado cálculo amostral: 20 pacientes no grupo Bu e 40 no grupo sem Bu.



PACIENTES E MÉTODO

Informações sobre pacientes

- Doença de base, sorologia para herpesvírus realizada previamente ao início do TCTH, regime quimioterápico, profilaxia para DECH, tipo de transplante, medicações anti-inflamatórias e analgésicas, prescrição de antifúngicos, antibióticos e antivirais profiláticos ou não, número de dias de internação, número de dias de uso de nutrição parenteral e número de dias de diarreia;
- Quanto à cavidade bucal: grau de mucosite oral (OMS), número de dias de MO, presença de dor na cavidade bucal, presença de xerostomia, presença de dor para deglutir e presença de infecções na mucosa bucal, DECH.



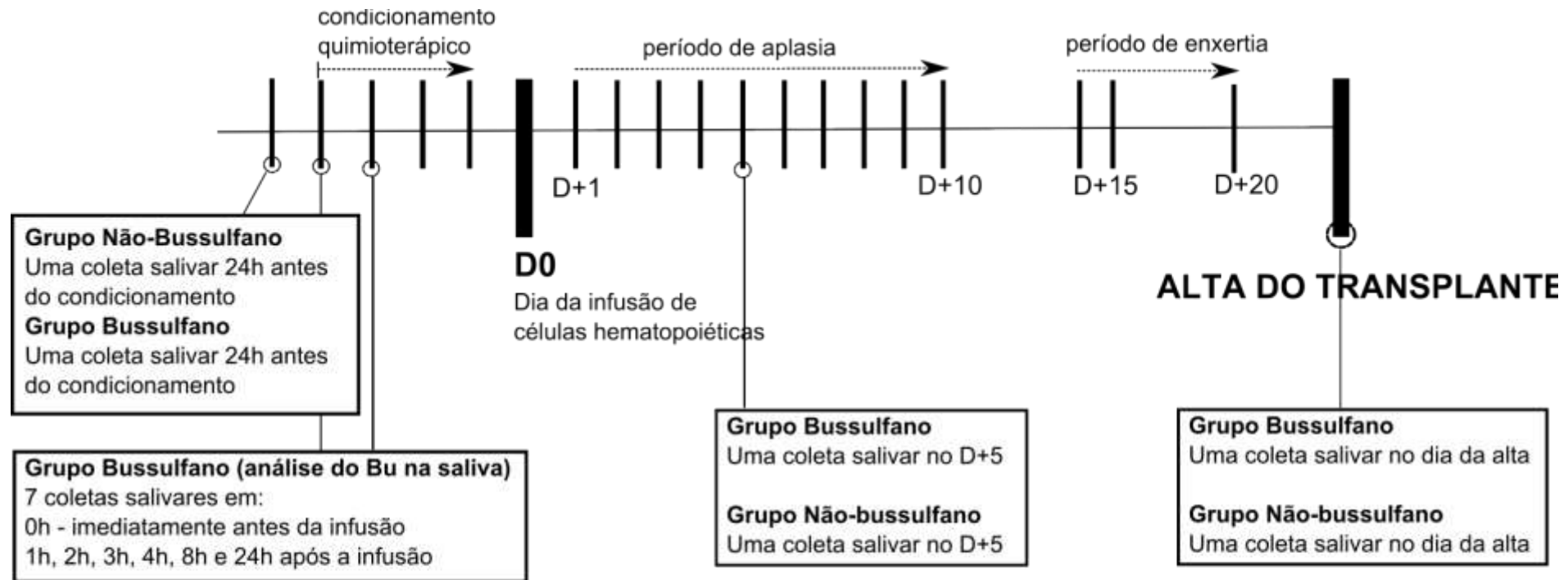
PACIENTES E MÉTODO

Cuidados Bucais

- Av pré TCTH, eliminação de focos infecciosos na cavidade bucal e orientações sobre higiene bucal;
- Durante o transplante: escovação dental, fio dental quando possível, hidratante labial, bochechos com colutório sem álcool. Em caso de xerostomia, saliva artificial. Todos os pacientes são submetidos a sessões diárias de Fotobiomodulação para prevenir a mucosite oral.

PACIENTES E MÉTODO

Coleta e armazenamento da saliva



TOTAL DE COLETAS SALIVARES

Grupo Bussulfano (n=20) - 10 coletas, 7 para análise do Bu e 3 para análise protéica

Grupo Bussulfano (n=20) - 3 coletas para análise protéica

Grupo Não-Bussulfano (n=40) - 3 coletas para análise protéica

PACIENTES E MÉTODO

Coleta e armazenamento da saliva

- Para as coletas: kit composto por coletor salivar e tubo esterilizado (Salivette®).
- Os pacientes são orientados a mastigar, durante 5 min, o coletor, o qual estimula a salivação por meio da ação mecânica da mastigação em conjunto com a ação química de pequeno teor de ácido cítrico presente no coletor. Em seguida, esse coletor será inserido no tubo e mantido refrigerado até o laboratório. Volume médio de 3 mL de saliva de cada paciente.
- A saliva coletada foi centrifugada (4000rpm durante 15min) e o sobrenadante alíquotado em microtubos contendo 250µL. Em seguida, as alíquotas foram congeladas em nitrogênio líquido e mantidas em freezer -80°C até o momento de seu uso.



PACIENTES E MÉTODO

Quantificação do bussulfano na saliva e no plasma

- A quantificação do Bu na saliva: cromatografia líquida de alta eficiência - fase reversa, com detector de ultravioleta a 254 nm. O método foi adaptado de Esteves (2014), em cujo trabalho foi realizada quantificação do Bu no plasma de pacientes em TCTH.

Análise estatística

- Os dados quantitativos comparados entre si utilizando-se análise de variância ANOVA seguida de teste de Tukey. Os dados categóricos submetidos a teste do qui-quadrado ou a teste Exato de Fisher. Análise multivariada com os dados clínicos e os dados laboratoriais, bem como análise de correlação linear (correlação de Spearman) entre os dados de Bu salivar e sérico e entre os dados clínicos, salivares e citológicos. O nível de significância adotado será de 5%.

RESULTADOS

- Realizada a quantificação do Bu na saliva e no plasma de 19 pacientes:
 - ✓ TCTH auto: n =1
 - ✓ TCTH alo: n=18
- Alguns pacientes realizaram mais de uma quantificação, feitas em dias distintos. No total, foram incluídas 32 análises de cada tempo de coleta, totalizando-se 320 medidas.
- A quantificação do bussulfano na saliva exibiu um alto índice de correlação com a do plasma ($r=0.92$, CI – 0.89-0.93, $p<0.001$), com curvas semelhantes entre si.



RESULTADOS

- O pico salivar coincidiu com o pico plasmático, estimado em 180min. Quantidade de Bu tanto no plasma quanto na saliva não zera em 480min, indicando que pode ainda agir sobre a mucosa oral depois desse período.
- Dose de Bu salivar é terapêutica, portanto tóxica para a mucosa oral, e deve influenciar na frequência, nos graus e na duração da MO. Essa hipótese será testada quando a amostra estiver completa.



RESULTADOS

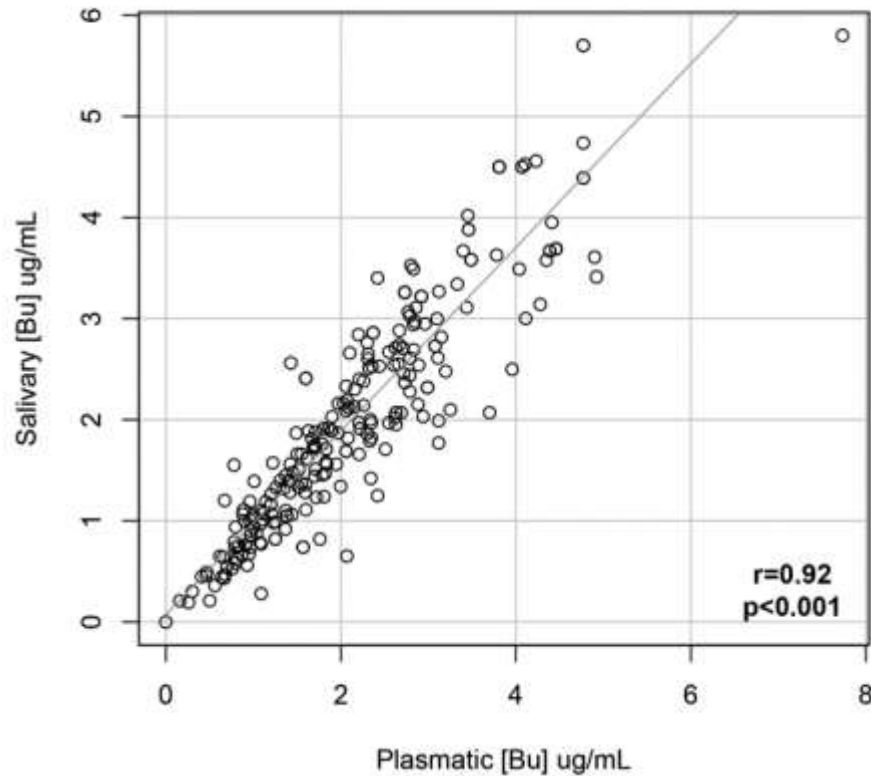


Figura 2A

Dispersão dos valores de concentração plasmática e salivar de bussulfano e índices de correlação.

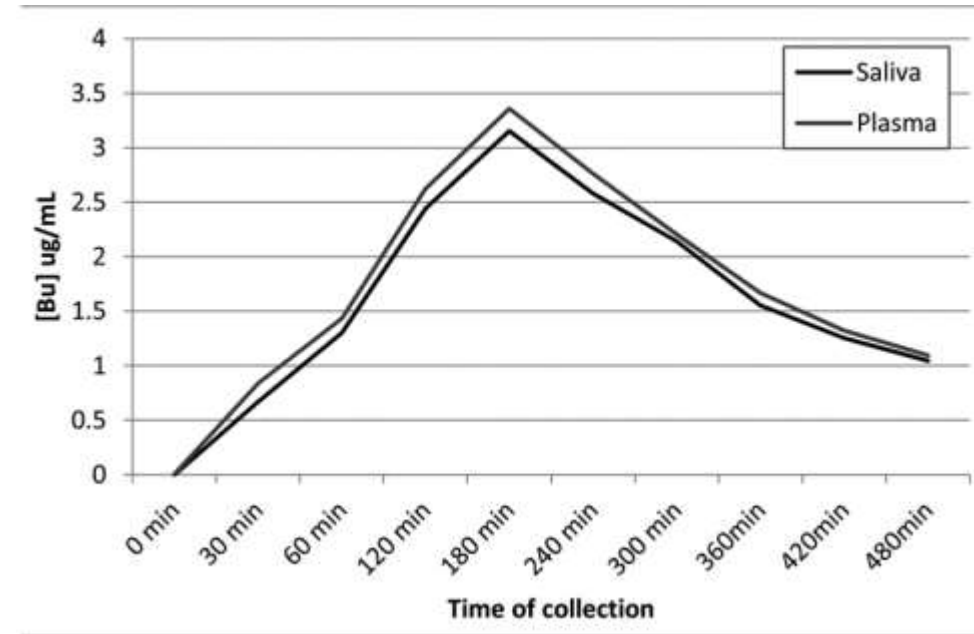


Figura 2B

Curva de concentração do bussulfano salivar e plasmático, obtida a partir da média das medidas em cada tempo de coleta.

CONCLUSÃO

- Por esses resultados, pode-se concluir que a quantidade de bussulfano encontrada na saliva é similar a do plasma, sendo possível a monitorização individual do bussulfano utilizando coletas salivares.
- É importante mencionar, contudo, que em 17 coletas (5.3%) o volume de saliva era insuficiente para análise, mostrando que a quantificação do bussulfano na saliva pode ser inviável para os pacientes que já exibem hipossalivação no momento do condicionamento.



ORIGINAL ARTICLE

Therapeutic salivary monitoring of IV busulfan in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a pilot study

LM Bezinelli¹, FP Eduardo¹, DLC de Carvalho², CE dos Santos Ferreira³, EV de Almeida³, LR Sanches³, I Esteves¹, PV Campregher³, N Hamerschlak¹ and L Corrêa²

Individual therapeutic monitoring of busulfan (BU) minimizes its toxicity and improves the therapeutic outcomes during hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). For individual dose adjustment, several blood collections are performed that are uncomfortable for patients. The aim of this pilot study was to validate a laboratory method for quantification of BU in saliva and to present the results obtained using this protocol in HSCT patients. We performed analyses of selectivity, precision and accuracy of saliva with standard concentrations of BU using ultra-high-performance liquid chromatography with diode array detection. We also determined salivary and plasmatic concentrations of BU in six HSCT patients. Saliva exhibited excellent selectivity, precision and accuracy for quantification of BU. In the patient samples, significant correlations were noted between plasmatic and salivary concentrations of BU ($r=0.97$, $P < 0.001$ in the test dose; $r=0.93$, $P < 0.001$ in the adjusted dose). Passing & Bablok regression revealed good agreement between the two methods ($R^2 = 0.956$ for test dose; $R^2 = 0.927$ for adjusted dose). In conclusion, the saliva is safe for laboratory BU measurement. The good agreement with plasma encourages further clinical studies using saliva for BU therapeutic monitoring.

Bone Marrow Transplantation advance online publication, 24 July 2017; doi:10.1038/bmt.2017.142

Obrigada

cristina.vogel@einstein.br

