

CONCENTRAÇÃO DE URÉIA SALIVAR EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE CÂNCER BUCAL E SUBMETIDOS À RADIOTERAPIA.

Salivary urea concentration in oral cancer and irradiated patients

Antônio Adilson Soares de Lima¹
Maria Antonia Zancanaro de Figueiredo²
Stela Maria Rigo Krapf³
Fabianny Rodrigues de Souza³

Resumo

Objetivo: O propósito desta pesquisa foi avaliar a concentração da uréia na saliva de pacientes portadores de câncer bucal e em indivíduos submetidos à radioterapia na região da cabeça e pescoço. **Planejamento:** Estudo do tipo exploratório empregando uma abordagem quantitativa da concentração de uréia em amostras de saliva total estimulada obtidas de forma padronizada em 86 indivíduos adultos de ambos os sexos. Do total, 32 indivíduos apresentavam neoplasia maligna bucal avançada, 24 foram submetidos à radioterapia e 30 eram indivíduos clinicamente saudáveis. Para investigar os efeitos da radioterapia sobre a uréia, as amostras de saliva foram colhidas antes, durante, ao final e até seis meses após o término do tratamento. A análise de concentração da uréia foi realizada por meio de automação seguindo o método enzimático GIDH (340-380nm). As médias da concentração da uréia na saliva total dos indivíduos portadores de câncer, irradiados e saudáveis foram, respectivamente, $27,2 \pm 14,4$ mg/dl, $30,7 \pm 15,7$ mg/dl e $36 \pm 18,5$ mg/dl. O grupo de indivíduos portador de câncer e tratados por radioterapia por Cobalto (Co60) apresentou as seguintes médias na concentração de uréia salivar: $26,2 \pm 16,5$ mg/dl (antes do tratamento), $33,2 \pm 22,4$ mg/dl (dose de 1500 cGy), $31,4 \pm 9,3$ mg/dl (final do tratamento), $35,5 \pm 15,9$ mg/dl (dois meses após tratamento), $34,2 \pm 12,7$ mg/dl (quatro meses após tratamento) e $28,9 \pm 10,2$ mg/dl (seis meses após tratamento). A análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa entre a média da concentração da uréia para os grupos avaliados. Desta forma, a uréia salivar humana não sofre interferências diante da instalação de uma neoplasia bucal e do seu tratamento por radioterapia.

Palavras-chave: Saliva; Uréia; Radioterapia; Câncer bucal.

Abstract

Objective: The aim of this research was to assess urea concentration in whole saliva of oral cancer patients and healthy individuals submitted to head and neck radiotherapy. **Study design:** Exploratory study using quantitative focus of the urea concentration in samples of stimulated whole saliva. They were standard gotten of 86 male and female adults individuals. 32 individual had advanced oral cancer, 24 had been submitted to radiotherapy and 30 were healthy individuals. In order to assess radiation effects on the urea concentration, saliva samples were gotten before, during and until six months post-treatment. Urea concentration analysis was done by automatic techniques according to enzyme-method GIDH (340-380nm). Whole saliva urea concentration average of oral cancer, irradiated patients and healthy individuals were, respectively, $27,2 \pm 14,4$ mg/dl, $30,7 \pm 15,7$ mg/dl e $36 \pm 18,5$ mg/dl. Group of oral cancer treated by radiation therapy Cobalt (Co60) showed the following values for saliva urea concentration: $26,2 \pm 16,5$ mg/dl (before treatment), $33,2 \pm 22,4$ mg/dl (dose of 1500cGy), $31,4 \pm 9,3$ mg/dl (after treatment), $35,5 \pm 15,9$ mg/dl (two months after treatment), $34,2 \pm 12,7$ mg/dl (four months after treatment) and $28,9 \pm 10,2$ mg/dl (six months after treatment). Statistical analysis revealed that there were no significant differences between saliva urea concentration average for the groups. So, human salivary urea does not suffer interferences by oral cancer and after radiotherapy.

Keywords: Saliva; Urea; Radiotherapy; Oral cancer.

¹ Professor Dr. Titular do Curso de Odontologia da PUCPR, Brasil. Rua João Pontoni 120/1801 Cristo Rei. 80050-490 Curitiba/PR. Tel: (41) 3363-2900/9951-7616. E-mail: a.lima@pucpr.br

² Professora Titular do Curso de Odontologia da PUCRS, Brasil

³ Bioquímica do Hospital São Lucas da PUCRS, Brasil.

Introdução

A saliva é um fluido de composição orgânica e inorgânica produzido e excretado pelas glândulas salivares maiores e menores. Sua produção atinge um volume total de 0,5 a 1 litro/dia (1-2). Esta secreção tem várias funções importantes na boca, tais como a proteção e lubrificação dos tecidos bucais, formação do bolo alimentar, deglutição, digestão e na fala (3). A saliva também participa na manutenção da saúde bucal pela presença de constituintes com propriedades antibacterianas que regulam tanto a adesão como o metabolismo bacteriano. Outros componentes estão relacionados com o equilíbrio iônico na superfície dentária (4-5).

Quando o biofilme é exposto a carboidratos fermentáveis, as bactérias convertem este substrato em vários ácidos, ocasionando a diminuição do pH do meio e a desmineralização dos tecidos duros do dente. Subseqüentemente, o pH retorna à neutralidade quando os ácidos se difundem e saem do biofilme ou devido à formação de bases. Esta seqüência de modificações no pH do biofilme é denominada de curva de Stephan. Anos depois, observou-se que a aplicação de uréia no biofilme leva à formação de bases e redução na diminuição do pH ocorrida após exposição aos açúcares (6).

Dentre os vários componentes salivares, a uréia origina-se nas glândulas salivares, sendo um indicador da síntese protéica nas células acinares (7). Além disso, a uréia também reflete os danos sofridos pelas células da glândula salivar (8-9).

Os pacientes portadores de hipossalivação também apresentam alta atividade de cárie (10-12). Esta relação é demonstrada claramente nos pacientes irradiados na terapia de neoplasias malignas, cujo campo de irradiação atinja as glândulas salivares (13-14). O risco de infecções periodontais também é elevado nos indivíduos submetidos à radioterapia da região da cabeça e pescoço, devido ao aumento de biofilme e na mudança na microbiota bucal produzidas pela hipossalivação induzida pela radiação (15-17).

A uréia é um componente orgânico normal da saliva que causa uma rápida elevação no pH do biofilme dental e representa o produto final do catabolismo humano das proteínas. A concentração de uréia na saliva total de indivíduos saudáveis varia de 2 a 4mmol/l; no entanto, ela é mais concentrada na saliva das glândulas acessórias quando pode atingir uma média de 5mmol/L (18). A elevação da uréia na saliva pode indicar alteração sistêmica, principalmente em indivíduos idosos (19). O pH do biofilme dental é mais elevado em pacientes portadores de doença renal do que em indivíduos saudáveis. Este pH mais alto tem correlação significativa com a concentração salivar de uréia (20-21).

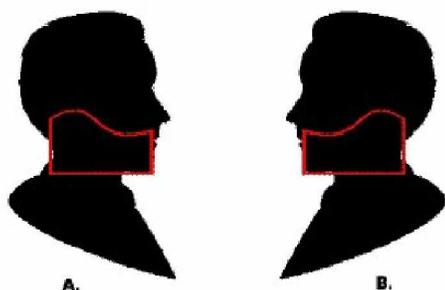
A amônia, um produto gerado a partir do metabolismo da uréia e dos aminoácidos presentes no biofilme dental, é potencialmente citotóxico para os tecidos gengivais (22). Esta substância pode aumentar a permeabilidade do epitélio sulcular a outras substâncias antigênicas e tóxicas e promover a formação cálculo dental e desempenha um papel no processo de iniciação da gengivite (23).

Estudos demonstram que a radiação ionizante empregada pelo tratamento radioterápico é capaz de modificar seriamente a concentração dos componentes salivares (24-32). Entretanto, não se sabe se estas alterações salivares são exclusivamente induzidas pela radioterapia ou se a própria doença interfere com o funcionamento glandular. A literatura é carente de estudos referentes a possíveis alterações ocorridas na concentração da uréia salivar em indivíduos submetidos a tratamento radioterápico de tumores em cabeça e pescoço. Este trabalho teve por objetivo avaliar os níveis da uréia salivar em pacientes portadores de câncer bucal, não tratados, e em pacientes submetidos à radioterapia.

Material e método

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital São Lucas da PUCRS, Brasil. 101 indivíduos adultos, de ambos os sexos e idade variando entre os 35 e 80 anos, fizeram parte deste estudo, sendo divididos em 3 grupos.

O primeiro grupo foi constituído por 24 pacientes portadores de neoplasias malignas na região da boca e/ou orofaringe, submetidos a tratamento radioterápico na região de cabeça e pescoço. A área irradiada incluiu, além da região do tumor, os linfonodos cervicais e as glândulas salivares maiores, e foi dividida em três campos, dos quais dois eram laterais paralelos e opostos e um cervicofacial (figura 1).



A dose de radiação total aplicada foi em média 70 Gy, fracionada em doses de 1,8 a 2 Gy/dia. Os aparelhos empregados no tratamento radioterápico foram o Theratron (modelo Phoenix) e o Siemens (modelo S-180), ambas unidades de teleterapia rotacionais por Co60 (d-fótons), com energia de 1,25 MeV.

O segundo grupo foi formado por 32 indivíduos portadores de neoplasia maligna na região da boca e/ou orofaringe, e que não haviam sido submetidos a nenhum tratamento até aquele momento. O terceiro grupo constituiu-se de 30 indivíduos saudáveis e que não faziam uso de qualquer tipo de medicação tópica ou sistêmica. As amostras de saliva total mecanicamente estimulada foram obtidas pelo método de spitting, usando um pedaço de látex de peso padronizado como agente estimulador, método de Navazesh (33). O tempo de coleta de saliva foi de 10 minutos, pelo fato dos pacientes submetidos à radioterapia apresentarem uma comprovada baixa velocidade do fluxo salivar.

Uma única amostra de saliva foi coletada dos indivíduos saudáveis e dos portadores de câncer bucal ainda não tratados. Os indivíduos submetidos à radioterapia foram submetidos a seis coletas de saliva, das quais uma foi obtida antes do

tratamento e as demais após o início da radioterapia. A coleta de saliva realizada durante as sessões de radioterapia ocorreu quando a dose recebida foi de 15 Gy. Com o término do tratamento radioterápico (dose total de 60 a 70Gy), efetuou-se a primeira coleta de saliva total pós-tratamento; as três outras coletas subsequentes foram feitas a cada dois meses, totalizando-se um período de observação de seis meses pós-radioterapia.

Antes de submeter as amostras de saliva à análise bioquímica para avaliação da concentração da uréia, elas foram centrifugadas durante 10 minutos a 3500 rpm, para separar as partículas contaminantes da saliva, tais como: células epiteliais descamadas, bactérias, células sanguíneas e resíduos alimentares. A seguir, a uréia foi quantificada por meio de um aparelho de automação MEGA (Merck) seguindo o método enzimático GIDH (340-380 nm) para análise de uréia (Merck). O princípio desta técnica é baseado na presença das enzimas urease e GIDH, quando a uréia é convertida em 2-aminoácido + 2NAD⁺ + 2H⁺

Os resultados obtidos foram expressos em miligramas por decilitro (mg/dl). Os dados obtidos foram tabulados e submetidos a tratamento estatístico.

Resultados

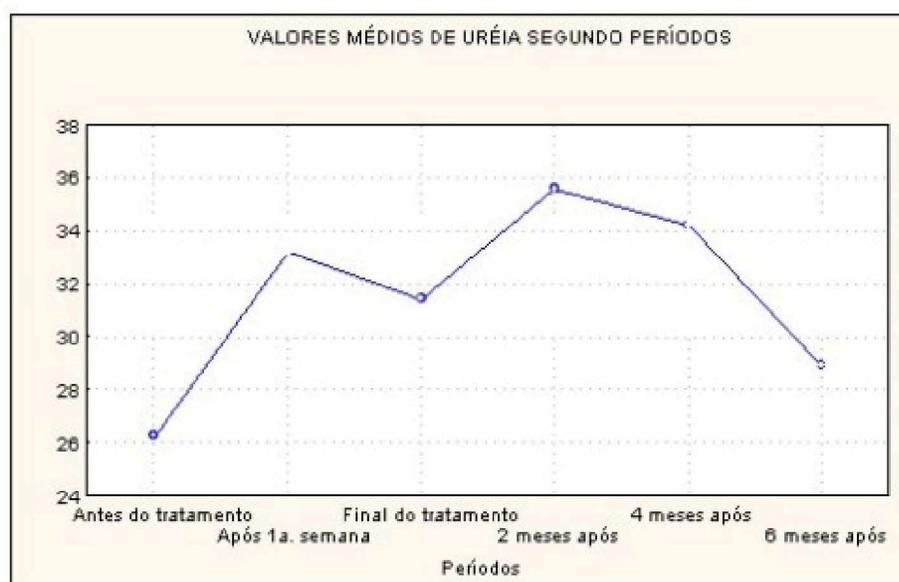
A uréia encontrava-se na saliva dos indivíduos submetidos à radioterapia numa concentração em torno de 27,2+14,4mg/dl (baseline) antes do tratamento. Após receberem a dose de 15Gy, esta concentração aumentou para 32,5+19mg/dl e ao terminarem o tratamento a concentração reduziu-se para 30,3+9,4mg/dl. Após dois e quatro meses do tratamento, a concentração desta enzima voltou a se elevar, atingindo respectivamente: 32,5+15,3mg/dl e 33,2+12,2mg/dl. Aos seis meses de pós-tratamento, a concentração da uréia diminuiu, voltando a valores próximos ao baseline (28,1+11mg/dl). No entanto, apesar destes dados refletirem alterações quantitativas para este componente orgânico em diversos momentos do estudo, a análise

de variância para medidas repetidas não encontrou diferença significativa para esta variável em função do tratamento radioterápico (tabela 1 e figura 2).

Tabela 1 Média, desvio-padrão e coeficiente de variabilidade da concentração da uréia na saliva total estimulada em indivíduos submetidos à radioterapia na região da cabeça e pescoço. Porto Alegre/RS, 2005.

Uréia (mg/dl)	Pré Radioterapia	Durante Radioterapia 15 Gy	Pós Radioterapia	2 meses Pós Radioterapia	4 meses Pós Radioterapia	6 meses Pós Radioterapia	Valor P
Média	2.25	363.21	31.42	35.58	34.21	28.92	0.107951
Desvio-Padrão	16.6	22.4	9.3	15.9	12.7	10.2	-
CV	63.2	67.4	29.5	44.6	37.2	35.2	-

Fonte: Serviço de Estomatologia do Hospital São Lucas da PUCRS, SERP e Hospital Santa Rita.



Na tabela 2, observamos os valores da média e desvio-padrão da concentração desta enzima de acordo com os três grupos em destaque neste trabalho.

Tabela 2 Média e desvio-padrão da concentração da uréia na saliva total estimulada de indivíduos com câncer bucal, pacientes tratados por radioterapia e indivíduos saudáveis. Porto Alegre/RS, 2005

Uréia (mg/dl)	Pacientes com câncer em tratamento	Pacientes submetidos à radioterapia	Indivíduos saudáveis	Valor P
Média	27.25	27.28	36.03	.051137
Desvio-padrão	14.4	15.7	18.5	-

Fonte: Serviço de Estomatologia do Hospital São Lucas da PUCRS, SERP e Hospital Santa Rita.

Apesar dos valores encontrados para os grupos de indivíduos saudáveis, com câncer e aqueles submetidos à radioterapia apresentarem valores diferentes quanto à

concentração da uréia salivar, não foi notada diferença estatisticamente significativa entre eles (ANOVA).

Discussão

A maioria dos estudos sobre saliva em pacientes irradiados visou a determinar as alterações na velocidade do fluxo salivar e nos principais componentes inorgânicos, que são importantes no processo de remineralização dos dentes (24-32).

A uréia é um componente orgânico normal da saliva e que tem sido utilizada como um indicador da síntese protéica e de danos sofridos pelas células acinares (7-9). Os resultados da análise bioquímica da uréia salivar nos indivíduos submetidos à radioterapia revelaram que a concentração desta substância sofre uma elevação durante o tratamento, retornando a valores próximos aos do baseline, num período de seis meses após o término dele. Este fato pode ser explicado pelo fato de a concentração da uréia estar relacionada inversamente à velocidade do fluxo salivar (18). Os pacientes irradiados apresentam xerostomia e redução progressiva, contínua e significativa na velocidade do fluxo de saliva total estimulada, observada uma semana após o início do tratamento radioterápico (32). Esta saliva mais concentrada de uréia é o reflexo das modificações sofridas pelas células acinares pela radioterapia e, teoricamente, deveria conferir maior proteção nestes indivíduos à cárie por elevar o pH do biofilme. No entanto, ocorre o inverso, pois a pouca quantidade de saliva é insuficiente para que ela execute as suas funções de maneira eficaz. Além disso, os pacientes que recebem tratamento radioterápico na cabeça e pescoço sofrem uma modificação na microbiota bucal e apresentam elevados níveis de microrganismos cariogênicos (15-17). Sendo assim, o incremento de lesões de cárie e de doença periodontal observados em indivíduos irradiados acaba sendo um efeito indireto da baixa velocidade do fluxo salivar, o que vem a corroborar os achados de Vissink (14). Entretanto, a análise de variância para medidas repetidas demonstrou que estas modificações sofridas na concentração da uréia salivar em função do tratamento radioterápico pelo Co60 não foram estatisticamente relevantes. Desta forma, apesar da radiação por Co60 ser

capaz de alterar grande parte dos constituintes salivares, a produção da uréia salivar parece não ser afetada.

Estudos demonstram que concentrações elevadas de uréia salivar podem ser indicio de doenças sistêmicas (19). A inclusão de dois grupos de indivíduos (saudáveis e pacientes com câncer sem nenhuma forma de tratamento prévio) excluiu a possibilidade de que a pró prianeoplasia maligna pudesse comprometer de alguma forma o funcionamento das glândulas salivares.

A presença de lesões extensas na boca de pacientes portadores de câncer bucal prejudica a realização de algumas funções bucais, tais como a mastigação, proteção aos tecidos bucais e a deglutição, refletindo no processo de digestão dos alimentos e no estado de saúde geral deste indivíduo.

Neste trabalho não foram encontradas diferenças significativas ao se comparar as médias da concentração de uréia salivar entre os grupos de indivíduos saudáveis, portadores de câncer bucal, não tratados, e aqueles submetidos à radioterapia na região da cabeça e pescoço ($P=0,051137$).

Com base nos resultados obtidos, pode-se considerar que a radioterapia por Co 60 empregada nas neoplasias malignas da cabeça e pescoço não é capaz de induzir alterações significativas na secreção de uréia salivar pelas células secretoras que sobreviveram a exposição à irradiação. Além disso, afasta-se também a possibilidade de tumores sediado na boca, desde que não esteja comprometendo as glândulas salivares maiores, alterarem o funcionamento destas glândulas.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que :

- A radioterapia (Co60) não causou alterações significativas na concentração da uréia salivar;
- A neoplasia maligna bucal não causou alterações significativas na secreção da uréia salivar.

Agradecimentos

Ao SERP (Serviço de Radioterapia do Hospital São Lucas da PUCRS), ao Serviço de Radioterapia do Hospital Santa Rita do Complexo Hospitalar Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre e ao Laboratório de Bioquímica do Hospital São Lucas da PUCRS.

Referências

1. Epstein JB, Scully C. The role of saliva in oral health and the causes and effects of xerostomia. *J Can Dent Assoc* 1992; 58:217-21.
2. Tenovuo J, Lagerlöf F. Saliva. In: Thylstrup A, Fejerskov O. *Cariologia Clínica*. 2a. ed. São Paulo: Livraria Santos Editora, 1995. p. 17-43.
3. Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Diseases* 2002; 8:117-29.
4. Edgar, WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Brit Dent J* 1992; 172:305-312.
5. Levine, MJ. Salivary macromolecules. A structure/function synopsis. *Ann NY Acad Sc* 1993; 694:11-6.
6. Dibdin GH, Dawes C. A mathematical model of the influence of salivary urea on the pH of fasted dental plaque and on the changes occurring during a cariogenic challenge. *Caries Res*. 1998;32(1):70-4.
7. Mandel ID. Sialochemistry in diseases and clinical situations affecting salivary glands. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1980; 11:321-66.
8. Cowman RA, Baron SS, Glassman AH. et al. Changes in protein composition of saliva from radiation-induced xerostomia in patients and its effects on growth of oral streptococci. *J Dent Res* 1983; 62:336-40.
9. Beccioloni A, Gianaardi G, Cionini L. et al. Plasma amylase activity as a biochemical indicator of radiation injury to salivary glands. *Acta Radiol Oncol* 1984; 23:9-14.
10. Dreizen S, Daly TE, Drane JB, Brown LR. Oral complications of cancer radiotherapy. *Postgrad Med* 1977; 61:85-92.
11. Jansma J, Vissink A, Jongebloed WL, Retief DH, 's-Gravenmade EJ. Natural and induced radiation caries. A SEM study. *Am J Dent* 1993; 6:130-6.
12. Leone CW, Oppenheim FG. Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in humans. *J Dent Educ* 2001; 65:1054-62.
13. Spak CJ, Johnson G, Ekstrand J. Caries incidence, salivary flow rate and efficacy of fluoride gel treatment in irradiated patients. *Caries Res*. 1994; 28(5):388-93.
14. Vissink A, Jansma J, Spijkervet FKL, Burlage FR, Coppes RP. Oral sequelae of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14:199-212.
15. Jansma J. Oral sequelae resulting from head and neck radiotherapy. Course, prevention and management of radiation caries and others complications. Groningen: 1991. 157 p. [Tese]. Riksuniversiteit Groningen, 1991.
16. Markitziu A, Zafiroopoulos G, Tsalikis L, Cohen L. Gingival health and salivary function in head and neck-irradiated patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 73:427-33.
17. Leung WK, Samaranayake LP, CHIU GKC. Subgingival microbiota of shallow periodontal pockets in individuals after head and neck

- irradiation. *Oral Microbiol Immunol* 1998; 13:1-10.
18. Macpherson LM, Dawes C. Urea concentration in minor mucous gland secretions and the effect of salivary film velocity on urea metabolism by *Streptococcus vestibularis* in an artificial plaque. *J Periodontal Res*. 1991; 26:395-401.
19. Pajukoski H, Meurman JH, Snellman-Grohn S, Keinänen S, Sulkava R. Salivary flow and composition in elderly patients referred to an acute care geriatric ward. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1997; 84:265-71.
20. Peterson S, Woodhead J, Crall J. Caries resistance in children with chronic renal failure: plaque pH, salivary pH, and salivary composition. *Pediatr Res*. 1985 Aug;19:796-9.
21. Jaffe EC, Roberts GJ, Chantler C, Carter JE. Dental findings in chronic renal failure. *Br Dent J*. 1986 Jan 11; 160:18-20.
22. Slots J, Genko RJ. Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human disease: Virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. *J Dent Res*. 1984; 63:412-21.
23. Singer DL, Kleinberg I. Ammonia and urea content of human incisor tooth plaque. *Arch Oral Biol*. 1978; 23:1083-7.
24. Dreizen S, Brown LR, Handler S, Levy BM. Radiation-induced xerostomia in cancer patients. Effects on salivary and serum electrolytes. *Cancer* 1976; 38:273-278.
25. Kuten A, Ben-Aryeh H, Berdicevsky I, Ore L, Szargel R, Gutman D, Robinson E. Oral Side effects of head and neck irradiation: correlation between clinical manifestations and laboratory data. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986; 12:401-5.
26. Makkonen TA, Tenovuo J, Vilja P, Heimdahl A. Changes in the protein composition of whole saliva during radiotherapy in the patients with oral or pharyngeal cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986; 62:270-5.
27. Makkonen TA. Studies on oral complications of head and neck cancer radiotherapy. *Proc Fin Dental Soc* 1988; 84:1-111.
28. Vissink A, Kalicharan D, 's-Gravenmade EJ. et al. Irradiation effects on rat submandibular glands. An assessment by enzymocytochemistry, sialometry and sialochemistry. *Micron Microsc Acta* 1990; 21:275-6.
29. Vissink A, 'S-Gravenmade EJ, Ligeon EE, Konings AW. Effects of splitdose X irradiation on rat salivary gland function. *Radiat Res* 1991; 127:52-7.
30. Nagler RM, Baum BJ, Fox PC. Acute effects of X irradiation on the function of rat salivary glands. *Radiat Res* 1993; 136:42-7.
31. Funegard U, Franzen L, Ericson T, Henriksson R. Parotid saliva composition during and after irradiation of head and neck cancer. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1994; 30B:230-3.
32. Lima AAS, Figueiredo MAS, Krapf SMR, Souza FR. Velocidade do fluxo e pH salivar após a radioterapia da região de cabeça e pescoço. *Rev Bras Cancerol* 2004; 50:287-93.
33. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci* 1993; 694:72-7.

Recebido em 25/05/2005; aceito em 29/07/2005
Received in 05/25/2005; accepted in 07/29/2005