

Liliana Maria do Vale Costa Gonçalves

Avaliação do pH Salivar em Pacientes Submetidos a Radioterapia
à Região de Cabeça e Pescoço

Universidade Fernando Pessoa - Faculdade de Ciências da Saúde

PORTO, 2015

Liliana Maria do Vale Costa Gonçalves

Avaliação do pH Salivar em Pacientes Submetidos a Radioterapia
à Região de Cabeça e Pescoço

Universidade Fernando Pessoa - Faculdade de Ciências da Saúde

PORTO, 2015

Liliana Maria do Vale Costa Gonçalves

Avaliação do pH Salivar em Pacientes Submetidos a Radioterapia
à Região de Cabeça e Pescoço

(Liliana Maria do Vale Costa Gonçalves)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Dentária

Resumo

A disfunção das glândulas salivares, como sequela da Radioterapia (RT) traduz-se geralmente em hipofunção salivar e conseqüente diminuição do pH. Este estudo avaliou o comportamento do pH salivar num grupo de 35 indivíduos submetidos a RT com fracionamento convencional, por tumores malignos da região de cabeça e pescoço. O acompanhamento foi obtido através de três avaliações a cada indivíduo. A primeira avaliação foi realizada antes do tratamento, a segunda após 15 sessões de tratamento e a última depois de terminado o tratamento. O pH salivar foi determinado através de indicadores de alaranjado de metilo e azul de bromotimol, colocados na face dorsal da língua. A média do valor de pH registada antes do tratamento foi 6,69. A medição intermédia demonstrou diminuição do valor de pH da saliva para 6,37, baixando para 6,31 até ao final do tratamento ($p > 0,05$). Estes resultados demonstraram que a RT, no tratamento de tumores da cabeça e do pescoço, parece reduzir o pH salivar, sendo este valor dose-dependente.

Palavras-chave: Neoplasia de cabeça e pescoço; Glândulas salivares; Hipossalivação; pH; Saliva; Radioterapia.

Abstract

The dysfunction of the salivary glands, as an effect of radiotherapy (RT), usually generates a salivary hypofunction and subsequent decrease of the pH value. This study aimed to evaluate the salivary pH behaviour in a group of 35 individuals under RT with conventional fractionation, for malignant tumours of the head and neck regions. The follow-up was obtained through three assessments to each individual. The first evaluation was conducted before treatment, the second one after 15 treatment sessions and the last one at the end of the treatment. The salivary pH was determined by methyl orange indicator and bromothymol blue indicator placed on the dorsal surface of the tongue. The average pH recorded before the treatment was 6.69. The intermediate measurement showed a diminution of the saliva pH value to 6.37, dropping to 6.31 by the end of treatment ($p > 0.05$). These results revealed that the RT for the treatment of tumours of the head and neck regions appears to reduce the salivary pH value, which is dose-dependent.

Keywords: Head and neck cancer; Salivary glands; Hyposalivation; pH; Saliva; Radiotherapy.

Índice

Índice de Gráficos.....	viii
Índice de Tabelas.....	ix
Siglas e abreviaturas.....	x
I. Introdução.....	1
I.1. Objeto principal do trabalho (Tema).....	1
I.2. Motivação.....	1
I.3. Objetivos.....	2
I.4. Hipótese.....	2
I.5. Critérios de inclusão.....	3
I.6. Critérios de exclusão.....	3
I.7. Métodos utilizados.....	3
II. Desenvolvimento.....	5
II.1. Variáveis epidemiológicas associadas à patologia oncológica de cabeça e pescoço.....	5
II.2. Sistema TNM.....	6
II.3. Anatomia das glândulas salivares.....	8
II.3.i. Glândulas salivares major.....	9
II.3.ii. Glândulas salivares minor.....	10
II.4. Fisiologia das glândulas salivares.....	11
II.4.i. Porção secretora ou ácino.....	11
II.4.ii. Células mioepiteliais.....	13
II.4.iii. Sistema de ductos.....	13
II.5. Saliva.....	14
II.5.i. Composição da saliva.....	15
II.5.ii. Funções da saliva.....	16
II.6. Fluxo salivar.....	20
II.6.i. Variação do fluxo salivar.....	22
II.7. Capacidade tampão e regulação do pH salivar.....	24
II.8. Radioterapia no tratamento de tumores malignos de cabeça e pescoço.....	26
II.8.i. Interação da radiação ionizante com a matéria.....	27
II.8.ii. Conceitos fundamentais em radiobiologia.....	28

II.8.ii.a)	Efeitos somáticos e efeitos genéticos	29
II.8.ii.b)	Efeitos estocásticos e efeitos determinísticos.....	29
II.8.ii.c)	Efeitos agudos e efeitos crónicos	30
II.8.iii	Tipos de órgãos.....	30
II.8.iv.	Efeitos adversos agudos induzidos pela RT em patologia oncológica de cabeça e pescoço.....	30
II.8.v.	Dose e fracionamento da RT em patologia oncológica de cabeça e pescoço	32
II.9.	Fisiologia da disfunção glandular radioinduzida	33
II.10.	Impacto da RT no fluxo salivar	37
III.	Resultados.....	41
IV.	Discussão	47
V.	Conclusão.....	54
VI.	Bibliografia	56

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Incidência e mortalidade dos cancros mais frequentes em Portugal no ano de 2012, para ambos os sexos e todas as idades, onde se incluem localizações como a cavidade oral, laringe e faringe.....	6
Gráfico 2: Relação entre a dose média e o fluxo salivar estimulado <i>baseline</i> e o período de follow-up.....	38
Gráfico 3: Valor de pH inicial	43
Gráfico 4: Valor de pH após 15 frações	44
Gráfico 5: Valor de pH final.....	44

Índice de Tabelas

Tabela 1: Categorias do estadiamento TNM em tumores da região de cabeça e pescoço, de acordo com a AJCC	7
Tabela 2: Estadio TNM nos tumores malignos de cabeça e pescoço.....	8
Tabela 3: Principais componentes da saliva, respectivas funções e ações	20
Tabela 4: Alguns fatores que influenciam o débito salivar	23
Tabela 5: Critérios de toxicidade aguda radioinduzida nas glândulas salivares, segundo a classificação do RTOG.....	31
Tabela 6: Localização do tumor primário.....	41
Tabela 7: Estadio T.....	42
Tabela 8: Estadio N	42
Tabela 9: Valor de pH médio, de acordo com a dose mediana na parótida direita	45
Tabela 10: Valor de pH médio, de acordo com a dose mediana na parótida esquerda ...	46
Tabela 11: Valor de pH médio, de acordo com a dose mediana no conjunto das parótidas.....	46

Índice de Figuras

Fig.1: Anatomia de estruturas orofaciais	10
Fig. 2: A , Representação das unidades secretórias. B , secção histológica de uma glândula salivar normal. Aparência normal dos ductos (ponta da seta) e ácinos (setas) com magnificação x10.....	12
Fig. 3: Unidade básica das glândulas salivares e respetiva secreção.....	14
Fig. 4: Componentes da saliva.....	15
Fig.5: Radiossensibilidade de vários tecidos	32

Siglas e Abreviaturas

3D CRT - *Three-Dimensional Conformal Radiotherapy*

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AJCC - *The American Joint Committee on Cancer*

ATP - Adenosina Trifosfato

CHART - *Continuous Hyperfractionated Accelerated Radiotherapy*

Gy - Gray

HPV – Papiloma Vírus Humano

IARC - International Agency for Research on Cancer

IMRT – *Intensity Modulated Radiotherapy*

IPOP – Instituto Português de Oncologia do Porto

LINAC - *Linear Particle Accelerator*

MV - Megavoltagem

NCCN - *National Comprehensive Cancer Network*

NCRP - *National Council on Radiation Protection & Measurements*

NTCP - *Normal Tissue Complication Probability*

QT - Quimioterapia

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RT - Radioterapia

TC – Tomografia Computorizada

TNM – T – Tumor; N – Gânglios regionais; M – Metástases

UFP – Universidade Fernando Pessoa

VMAT – *Volumetric Modulated Arc Therapy*

I. Introdução

As modalidades terapêuticas utilizadas na abordagem de tumores da região de cabeça e pescoço incluem a cirurgia, radioterapia (RT) e quimioterapia (QT). A RT, cujo agente terapêutico é a radiação ionizante, tem como objetivo destruir células neoplásicas através da ionização no meio onde incide, tornando-o eletricamente instável e sensível ao dano. A RT, contudo, não é seletiva, pois não possui a capacidade de diferenciar as células normais das células malignas, o que a torna tóxica para o organismo. Esta modalidade, quando aplicada na região de cabeça e pescoço, dependendo da dose total, da dose por fração, volume de tratamento e do uso concomitante de QT, pode produzir alterações reversíveis e irreversíveis nos tecidos normais. Os efeitos nocivos mais frequentes são aqueles que ocorrem nas glândulas salivares, ossos, dentes, mucosa, músculos e articulações. Estes efeitos combinam a perda celular e o dano na vascularização local, resultando em mucosite, dermatite, infecções orais oportunistas, xerostomia, hipossalivação, hipogeusia, halitose, osteoradionecrose, fibrose e trismo. Atualmente, sabe-se que doses de radiação entre 10 e 15 Gy são capazes de alterar o funcionamento das glândulas salivares humanas.

I.1. Objeto principal do trabalho (Tema)

Neste trabalho pretendeu-se abordar a possível associação entre a RT no tratamento de tumores da cabeça e pescoço e a alteração do pH (potencial de hidrogénio) salivar durante as semanas de tratamento, pelo impacto que esta abordagem terapêutica tem na saúde oral em geral e na função salivar em particular.

I.2. Motivação

A Medicina Oral Oncológica é uma área importante em Medicina Dentária, razão pela qual a autora se decidiu a estruturar o seu trabalho científico dentro da temática.

A hipossalivação é uma das sequelas mais frequentes nos pacientes com tumores malignos da região de cabeça e pescoço tratados com RT. Esta condição é caracterizada pela redução qualitativa e quantitativa do fluxo salivar, habitualmente associada à

diminuição do pH salivar. Estas alterações fisiológicas podem contribuir para o aparecimento de dificuldades na mastigação, deglutição, fonação, aumento na prevalência de infeções (candidíase, cárie e doença periodontal), dor, perda de peças dentárias, osteonecrose e halitose. A literatura científica ainda oferece dúvidas quanto ao mecanismo radioinduzido da variação do pH salivar durante as semanas de tratamento. Pelo elevado índice de pacientes com neoplasias de cabeça e pescoço submetidos a RT de altas doses com campos de radiação extensos, verificou-se a necessidade de investigar possíveis alterações no valor de pH desses pacientes, bem como fatores associados, para que, após a investigação, se possam fornecer dados para programas de prevenção, reabilitação oral e minimização das disfunções. A integração do Médico Dentista na equipa multidisciplinar para o tratamento oncológico pode beneficiar o controlo do risco associado ao paciente.

I.3. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi determinar o pH salivar em pacientes com tumores malignos da região de cabeça e pescoço, durante os tratamentos de RT. Os objetivos específicos deste estudo foram:

1. Conhecer as implicações da alteração do pH salivar na saúde oral.
2. Estudar as relações entre a hipofunção salivar e o valor de pH salivar.
3. Avaliar se o pH salivar é dependente da dose mediana (de RT) nas parótidas.

I.4. Hipótese

H0: A alteração do pH salivar como efeito secundário não surge em pacientes submetidos a RT de cabeça e pescoço, durante as semanas de tratamento.

H1: A alteração do pH salivar como efeito secundário surge em pacientes submetidos a RT de cabeça e pescoço, durante as semanas de tratamento.

I.5. Critérios de inclusão

Doentes submetidos a RT à área de cabeça e pescoço, que concordaram com a participação no estudo.

I.6. Critérios de exclusão

Doentes menores de 18 anos.

Doentes com história de parotidectomia e/ou submandibulectomia.

Doentes em que, por limitação anatómica, fisiológica ou patológica, não fosse possível recolher amostras.

Doentes com tumores das glândulas salivares *major*.

I.7. Métodos utilizados

Tratou-se de um estudo prospetivo no qual foram avaliados e acompanhados pacientes com neoplasias malignas da região de cabeça e pescoço, submetidos a RT no Instituto Português de Oncologia do Porto (IPOP), selecionados de forma aleatória.

Este estudo foi iniciado após o protocolo ser submetido à apreciação e aprovação pela Comissão de Ética da Universidade Fernando Pessoa (UFP) e pela Comissão de Ética do IPOP. Todos os doentes sujeitos ao estudo concordaram com a participação na investigação, após assinarem o consentimento informado livre e esclarecido.

A amostra foi classificada quanto às variáveis do paciente (idade, género, histologia do tumor, estadio do tumor, localização do tumor, pH salivar inicial, pH salivar durante a RT e pH final), dados dosimétricos (dose total, dose por fração, dose mediana nas parótidas) e dados do tratamento (técnica de tratamento utilizada e terapêuticas associadas).

Todos os dados referidos, com exceção do valor de pH, foram recolhidos através de consulta do processo clínico. O pH salivar foi determinado pela aplicação de indicadores alaranjado de metilo e azul de bromotimol, que permitiram a diferenciação de valores de meia unidade entre 5 e 9. O doente foi instruído a não deglutir durante

dois minutos, mantendo o indicador na face dorsal da língua. Decorrido esse tempo, o indicador foi removido da boca e comparado o sistema de cores obtido com a escala de cores. A primeira recolha de pH foi efetuada antes dos pacientes iniciarem o tratamento. Passadas 15 frações, realizou-se a segunda avaliação e a última efetuou-se após o último tratamento, num total de três avaliações por doente.

A recolha de informação foi realizada no período entre janeiro e maio de 2015. O tratamento e a análise estatística foram efetuados recorrendo ao programa estatístico SPSS (v.17).

Nos testes estatísticos realizados durante o processo de investigação, nomeadamente o teste de χ^2 e *T*-student para amostras independentes, utilizou-se um nível de confiança de 95%, considerando a rejeição da hipótese nula sempre que o α (erro tipo I) foi menor que 0.05 (*p-value*).

II. Desenvolvimento

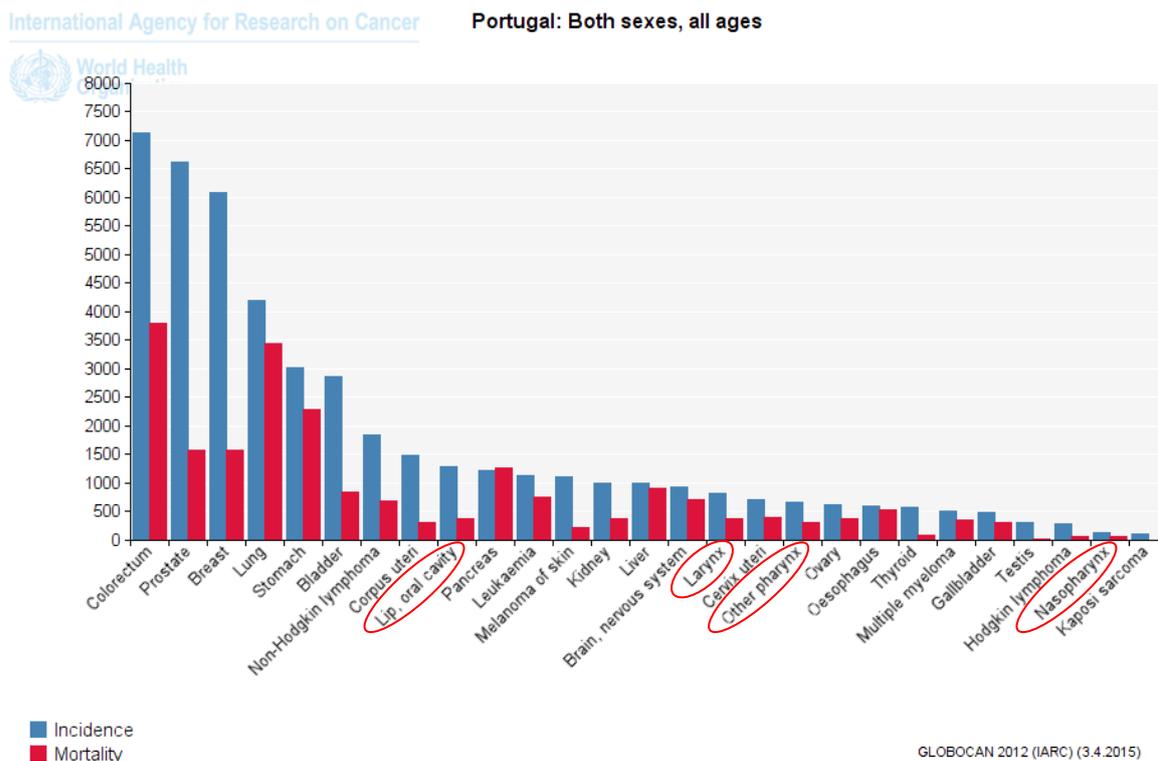
II.1. Variáveis epidemiológicas associadas à patologia oncológica de cabeça e pescoço

Os dados apresentados pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC), relativos a 2012, mostraram 14,1 milhões de novos casos de cancro, 8,2 milhões de mortes por cancro e 32,6 milhões de pessoas a viver com cancro 5 anos após o diagnóstico, em todo o mundo. Relativamente a Portugal, a taxa de incidência nesse ano foi de 48855 (International Agency for Research on Cancer, 2012; Registo Oncológico Regional do Norte, 2012).

A patologia oncológica de cabeça e pescoço representa cerca de 10% dos tumores malignos a nível mundial, podendo afetar diferentes áreas anatómicas. Em média, 40% dos casos ocorre na cavidade oral, 25% na laringe, 15% na faringe, 7% nas glândulas salivares e 13% nos restantes locais. A análise dos casos de tumores da cavidade oral (língua, gengivas, palato, pavimento da boca e trígono retromolar) e da orofaringe (amígdalas, parede faríngea e base da língua) registados entre 1998 e 2007 em Portugal permitiu perceber que houve um aumento da incidência de cancro nestas regiões, sendo a cavidade oral o local mais afetado (Gráfico 1) (International Agency for Research on Cancer, 2012; Registo Oncológico Regional do Norte, 2007).

Apesar de os homens continuarem a ser os principais afetados, o cancro da área de cabeça e pescoço está a aumentar entre as mulheres portuguesas, a um ritmo superior a 4%/ano, sobretudo em áreas aparentemente relacionadas com a infeção do vírus do papiloma humano (HPV). (Monteiro *et al.*, 2013; Registo Oncológico Regional do Norte, 2007)

Gráfico 1: Incidência e mortalidade dos cancros mais frequentes em Portugal no ano de 2012, para ambos os sexos e todas as idades, onde se incluem localizações como a cavidade oral, laringe e faringe (Fonte: <http://globocan.iarc.fr>).



II.2. Sistema TNM

O Sistema TNM é uma classificação definida pelo *The American Joint Committee on Cancer* (AJCC), que avalia a extensão de neoplasias malignas, nomeadamente carcinomas, com base em três categorias (AJCC Cancer Staging Manual, 2010):

<p>T - extensão do tumor primário</p> <p>N - ausência ou presença e a extensão de metástases em gânglios regionais</p> <p>M - ausência ou presença de metástases à distância</p>

Nos tumores malignos da região de cabeça e pescoço, as divisões e subdivisões de algumas categorias oferecem maior especificidade (Tabela 1).

Tabela 1: Categorias do estadiamento TNM em tumores da região de cabeça e pescoço, de acordo com a AJCC.

T - Tumor Primário	
Tx	Tumor primário não avaliado
T0	Não há evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
T1	Tumor com 2 cm ou menos na sua maior dimensão
T2	Tumor com mais de 2 cm e até 4 cm na sua maior dimensão
T3	Tumor com mais de 4 cm na sua maior dimensão
T4	Tumor que invade estruturas adjacentes

N - Gânglios Regionais	
Nx	Gânglios regionais não avaliados
N0	Ausência de metástase em gânglios regionais
N1	Metástase num gânglio homolateral, com 3cm ou menos na sua maior dimensão
N2	Metástase num gânglio homolateral, com mais de 3 cm e até 6 cm na sua maior dimensão (N2a); ou em múltiplos gânglios homolaterais, nenhum deles com mais de 6 cm na sua maior dimensão (N2b); ou em gânglios bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais de 6 cm na sua maior dimensão (N2c)
N3	Metástase em gânglios com mais de 6 cm na sua maior dimensão

M - Metástase à Distância	
Mx	Presença de metástase à distância não avaliada
M0	Ausência de metástase à distância
M1	Metástase à distância

A Tabela 2 refere-se ao agrupamento das diferentes categorias (T, N e M) em estadios, que tem como base o impacto de cada uma dessas categorias na sobrevida/prognóstico da doença (AJCC Cancer Staging Manual, 2010).

Tabela 2: Estadio TNM nos tumores malignos de cabeça e pescoço.

Estadio TNM em cancro de cabeça e pescoço			
Estadio 0	Tis	N0	M0
Estadio I	T1	N0	M0
Estadio II	T2	N0	M0
			M0
			M0
			M0
Estadio III	T3	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
Estadio IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
Estadio IVB	T4b	Qualquer N3	M0
	Qualquer T		M0
Estadio IVC	Qualquer T	Qualquer N	M1

Adaptado do *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*; Practice guidelines in oncology; head and neck cancers. Disponível em www.nccn.org/.

II.3. Anatomia das glândulas salivares:

Ao longo da história, as glândulas salivares têm sido tópico de interesse e de numerosas pesquisas. Em 160 AC, Galen descreveu a posição das glândulas salivares e respetivos ductos. Em 1543, Vesalius publicou uma descrição anatómica detalhada das glândulas salivares numa monografia intitulada *De Humani Corporis Fabrica*. Antes do século 17 pensava-se que as glândulas salivares serviam apenas como órgãos transportadores de resíduos, cuja função era a extirpação de espíritos malignos do cérebro a partir do sangue. A dedicação de cientistas como Boredu, Ludwig, Langley, Haller, Heidenhain,

Mueller, Baylis, Bernard e Pavlov permitiram o melhor conhecimento da anatomofisiologia das glândulas salivares (Cummings, 2011).

A saliva é segregada a partir de três pares de glândulas *major* (maiores) e numerosas salivares *minor* (menores). As glândulas salivares *major* são constituídas pelas parótidas, submandibulares e glândulas sublinguais. As glândulas salivares *minor* encontram-se na mucosa do lábio, língua, palato e faringe (Gray, 2000; Cummings, 2011).

II.3.i. Glândulas salivares major

Parótidas:

As parótidas são as maiores glândulas, estão localizadas uma de cada lado da face, na fossa retromandibular, anteriores ao pavilhão auricular e anterior ao esternocleidomastoídeo (Fig. 1). Cada uma é dividida em lobo superficial e lobo profundo pelo nervo facial. A saliva produzida é secretada através dos ductos de Stenon. Este ducto percorre superficialmente o masseter, passa 1 cm abaixo do arco zigomático, perfura o músculo bucinador e acaba na papila parotídea ao nível do 2º molar superior. Quanto à vascularização, as glândulas parótidas são irrigadas por ramos das artérias carótidas externa e temporal superficial. A drenagem venosa é efetuada para a veia jugular externa (Gray, 2000; Cummings, 2011).

Submandibulares:

As glândulas submandibulares encontram-se na parte posterior do triângulo submandibular, medialmente ao ângulo mandibular, parcialmente protegidas pelo corpo da mandíbula (Fig. 1). A saliva é secretada através dos ductos de Wharton, que são anteriores e mediais às glândulas sublinguais. Os ductos submandibulares apresentam proximidade com a musculatura supra-hióidea, ou seja, os ductos originam-se na porção glandular situada entre os músculos milo-hióideo e hioglosso. Além disso, cada ducto submandibular passa profundamente e depois superficialmente ao nervo lingual. As aberturas desses ductos para a cavidade oral consistem em três orifícios agrupados em duas pequenas papilas, facilmente visíveis ao lado do freio lingual, na carúncula sublingual. O aporte sanguíneo das glândulas submandibulares provém do ramo submentoniano da artéria facial (Gray, 2000; Cummings, 2011).

Sublinguais:

As glândulas sublinguais são as menores dos três pares das glândulas salivares *major* e encontram-se entre os músculos da cavidade oral. Apresentam uma localização mais profunda, no pavimento da boca e inferiormente à língua (Fig. 1). Encontram-se separadas das glândulas submandibulares pelo músculo milo-hióideu. Estas glândulas secretam saliva através dos ductos de Bartholin. São irrigadas pelas artérias sublingual e submentoniana, ramos das artérias lingual e facial, respetivamente (Gray, 2000; Cummings, 2011).

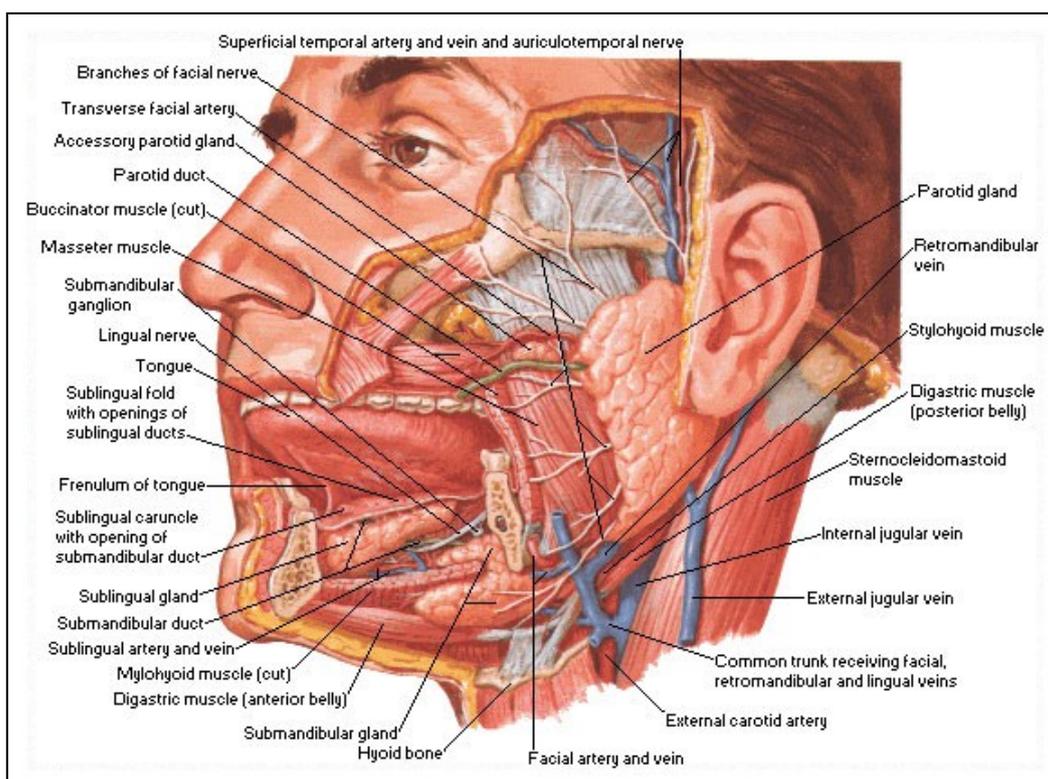


Fig.1: Anatomia de estruturas orofaciais.

(Fonte: <https://www.netterimages.com/salivary-glands-labeled-anatomy-atlas-4e-general-anatomy-frank-h-netter-4396.html>)

II.3.ii. Glândulas salivares minor

As glândulas salivares menores ou acessórias são um conjunto de 400 a 500 pequenas glândulas dispersas por toda a mucosa oral, exceto na gengiva e porção anterior do palato duro. São elas:

- I) Acessórias labiais
- II) Acessórias jugais
- III) Acessórias sublinguais ou glândulas de Rivinus

- IV) Acessórias palatinas
- V) Acessórias do palato mole e úvula
- VI) Acessórias glossopalatinas
- VII) Acessórias do espaço retromolar
- VIII) Acessórias linguais:
 - i. Glândulas de Blandim e Nuhn
 - ii. Glândulas de von Ebner
 - iii. Glândulas da base da língua (Gray, 2000; Cummings, 2011).

II.4. Fisiologia das glândulas salivares

A unidade básica da glândula salivar é composta por um ácino, um ducto intercalado e outro de excreção (Fig. 2A e B).

II.4.i. Porção secretora ou ácino

O ácino apresenta um lúmen central, rodeado por células polarizadas e delimitadas por uma membrana plasmática com dois polos distintos, um basolateral e um apical. Estes dois domínios são funcionalmente e fisicamente separados por junções de hiato que conectam células adjacentes imediatamente abaixo da área luminal (Nanci, 2003; Ross e Pawlina, 2005; Cummings, 2011).

Os ácinos são classificados como serosos, mucosos ou mistos (Fig. 2). Em geral, as células serosas produzem proteínas e glicoproteínas, muitas das quais exercem função enzimática e antimicrobiana. A principal função das mucinas é lubrificar, formar uma barreira protetora e agregar microorganismos, como será apresentado posteriormente (Nanci, 2003; Ross e Pawlina, 2005; Cummings, 2011).

As glândulas parótidas são glândulas exócrinas acinosas compostas enquanto que as submandibulares e as sublinguais apresentam adenómeros mistos, com produção mucoserosa, embora a última seja predominantemente mucosa. Relativamente às glândulas salivares menores, são geralmente mucosas, com exceção das glândulas de

von Ebner, que apresentam produção serosa (Fig.3) (Nanci, 2003; Ross e Pawlina, 2005; Cummings, 2011).

As células dos ácinos serosos têm forma piramidal e núcleos basais redondos. O citoplasma é denso, com grânulos de secreção basófilos ricos em proteínas, preparados para libertar o seu conteúdo para o lúmen acinar. O número destes grânulos varia de acordo com a fase da atividade secretora, diminuindo após um período de secreção e acumulando após um período de síntese.

Os ácinos mucosos apresentam um lúmen de maiores dimensões do que os ácinos serosos e as células que rodeiam o lúmen têm um citoplasma claro, núcleos basais achatados e mucigénio (precursor da mucina) (Fig. 2).

As células mucosas são encontradas em redor do lúmen dos ácinos, enquanto que as serosas são encontradas próximas à base dos ácinos.

Cada ácino está rodeado por uma camada de células mioepiteliais, que por sua vez é delimitada por uma membrana basal distinta (Nanci, 2003; Ross e Pawlina, 2005; Cummings, 2011) (Fig. 2A e B).

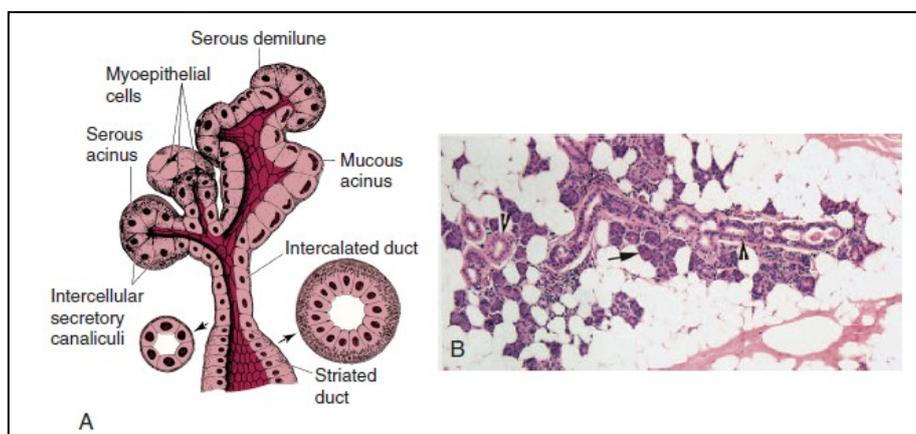


Fig. 2: **A**, Representação das unidades secretórias. **B**, secção histológica de uma glândula salivar normal. Aparência normal dos ductos (ponta da seta) e ácinos (setas) com magnificação x10. (Fonte: Ganong WF. Review of Medical Physiology. New York, McGraw Hill; 1999; 473)

II.4.ii. Células mioepiteliais

As células mioepiteliais são células não secretoras alongadas ou em forma de estrela, com longas ramificações que circundam o ácino e os ductos proximais (Fig. 2). Estas células apresentam junções de hiato e miofilamentos, que lhes conferem capacidade de expulsão de secreções pré-formadas e propriedades contrácteis (Nanci, 2003; Ross e Pawlina, 2005; Cummings, 2011).

II.4.iii. Sistema de ductos

O ácino é contíguo com o ducto intercalado, uma estrutura oca revestida por uma camada única de pequenas células cúbicas (Fig. 2A e B). A camada de células mioepiteliais rodeia esta porção de células cúbicas alinhadas, semelhante aos ácinos. Os ductos intercalados continuam como ductos estriados, revestidos por células cilíndricas e com microvilosidades na sua superfície luminal. As células ductais têm estrias basais proeminentes formadas por invaginações da membrana plasmática. As características de alta energia dessas células sugerem que elas estão envolvidas no transporte de iões e água. Os ductos estriados levam a ductos excretores, revestidos por duas camadas de epitélio, uma camada de células achatadas que rodeiam o lúmen ductal e uma camada exterior de células cilíndricas (Fig. 3) (Nanci, 2003; Ross e Pawlina, 2005; Cummings, 2011).

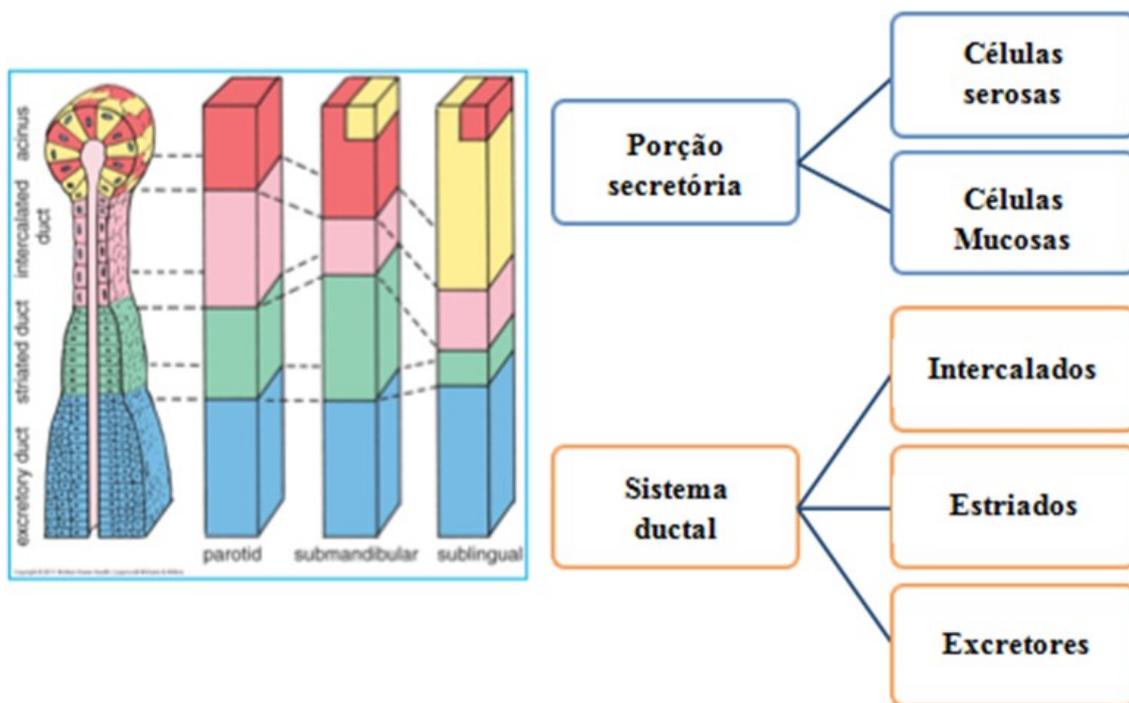


Fig. 3: Unidade básica das glândulas salivares e respetiva secreção.

Legenda: Barra vermelha corresponde a células serosas; Barra amarela corresponde a células mucosas. Adaptado de <https://www.studyblue.com/notes/n/maap-1-study-guide-2012-13-georgefbhanna/deck/9714356>

II.5. Saliva

A saúde e conforto da mucosa orofaríngea e dos dentes dependem de uma quantidade e qualidade de saliva adequadas.

A saliva consiste numa secreção complexa formada através de processos de transporte ativo que ocorrem na unidade secretora, sob controlo neuronal. O ácino é o local de formação do fluido e da maioria (~85%) das proteínas exócrinas. O componente fluido deriva do leito vascular local sob a forma de uma solução isotónica, secretada para o lúmen acinar. Esta secreção primária atravessa o sistema ductal antes de se libertar na cavidade oral. A maioria do sódio (Na^+) e cloro (Cl^-) na secreção principal é reabsorvida no ducto e uma pequena quantidade de potássio (K^+) e bicarbonato (HCO_3^-) é secretada. Algumas proteínas são adicionadas ao fluido salivar à medida que este atravessa o ducto secretor. No momento em que a saliva entra na cavidade oral, torna-se hipotónica (Dawes, 1987; Ferguson *et al.*, 1989; Cummings, 2011).

II.5.i. Composição da saliva

A saliva presente na cavidade oral, chamada de saliva total, é constituída por água (99%) e por uma mistura complexa de eletrólitos e macromoléculas. Esta mistura inclui secreções de todas as glândulas salivares (maiores e menores), produtos do metabolismo da flora oral, células microbianas, células epiteliais que sofreram descamação, restos alimentares, células sanguíneas, secreções creviculares gengivais e secreções de origem respiratória (Fig. 4). As concentrações de cada componente variam a nível intra e interindividual (Dawes, 1987; Ferguson *et al.*, 1989; Cummings, 2011).

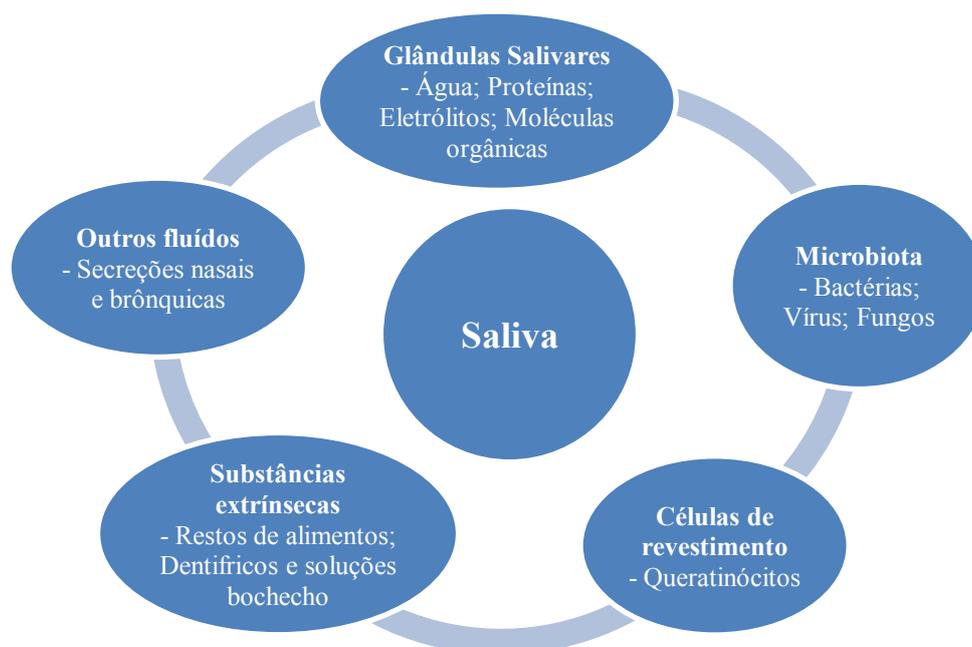


Fig. 4: Componentes da saliva.

A quantidade de substâncias orgânicas encontradas na saliva é de 0,5%, aproximadamente, sendo que as proteínas compõem a maioria desses componentes (~0,25%) (Dawes, 1987; Ferguson *et al.*, 1989; Cummings, 2011). As mais frequentemente encontradas são a mucina, a amilase, a urease, a lisozima, a anidrase carbônica, o tiocianato e a glicose.

Algumas enzimas salivares, como a α -amilase, a lipase, a ribonuclease e as oxidases iniciam a digestão e ajudam na limpeza da mucosa oral e dentes de restos de alimentos.

A amilase salivar tem como principal função o aumento da taxa de dissolução do amido. A lisozima, a lactoferrina, a cistitina, a defensina, a apolactoferrina, as imunoglobulinas (principalmente a IgA), as proteínas ricas em prolina, as peroxidases e as aglutininas são proteínas importantes na proteção contra substâncias nocivas ingeridas e contra infecções por microorganismos. A mucina e a estaterina facilitam o transporte de minerais num estado supersaturado. A anidrase carbônica participa na manutenção da homeostasia do pH salivar através da reação $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. A glicose, embora presente em quantidade reduzida, é o principal substrato que, na via glicolítica, explica a formação do ácido láctico, relacionado com o processo bioquímico da cárie dentária. A urease hidrolisa a ureia, responsável pelo aparecimento da amônia (NH_3) na saliva. Esta substância, como é básica, eleva o pH salivar, o que favorece a formação de tártaro pela precipitação de sais de Ca^{2+} .

Relativamente aos componentes inorgânicos, estes podem-se dividir em duas categorias: aniões (Cl^- , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , HCO_3^- (CO_2), SO_4^{2-} , S^- e F^-) e catiões (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , NH_4 e Mg^{2+}). Os mais frequentemente encontrados são: Cl^- , cálcio (Ca^{2+}), fosfato (PO_4^{3-}) e HCO_3^- (Dawes, 1987; Ferguson *et al.*, 1989; Tenovuo, 1989; Cummings, 2011).

A composição salivar varia de acordo com o fluxo, natureza e duração do estímulo, composição plasmática e com o período do dia no qual é feita a recolha (Dawes, 1987; Ferguson *et al.*, 1989; Tenovuo, 1989; Nanci, 2003; Cummings, 2011). De acordo com Ericson (1959), o principal fator que afeta a composição salivar é o fluxo, assim como a duração do estímulo.

II.5.ii. Funções da saliva

Os componentes da saliva são multifuncionais e têm papéis sobreponíveis na realização dessas tarefas (Navazesh e Kumar, 2008). A partir do estudo das funções da saliva, pode-se perceber o papel fundamental desse fluido para a saúde oral e, conseqüentemente, para a qualidade de vida de um indivíduo. As funções salivares podem ser organizadas em cinco categorias principais, com o objetivo principal de manter a homeostasia:

- (1) Lubrificação e proteção;

- (2) Auxílio na digestão e clivagem enzimática;
- (3) Capacidade tampão e *clearance* salivar;
- (4) Atividade antibacteriana;
- (5) Mediação de sensações (paladar).

1. A saliva é um emulgente que reveste as estruturas da cavidade oral e orofaringe, lubrificando e criando uma barreira protetora contra substâncias irritantes produzidas na placa bacteriana (enzimas proteolíticas e hidrolíticas) e agentes químicos. Os subcomponentes da saliva com as melhores propriedades de lubrificação e hidratação das estruturas orais são as mucinas, seguidas das proteínas ricas em prolina. As mucinas salivares concentram-se sobre a mucosa oral, pela sua baixa solubilidade, viscosidade elevada e capacidade adesiva. A barreira de proteção obtém-se pela ligação das mucinas e das proteínas ricas em prolina a moléculas de água (Nanci, 2003).

2. A saliva participa em todos os momentos da digestão oral e, pela sua função de humidificação e lubrificação dos alimentos, facilita a mastigação e a transformação do bolo alimentar a ser deglutido. Na mastigação, a saliva serosa tem maior influência, enquanto que no paladar e na deglutição a saliva mucosa tem maior importância. Como referido anteriormente, as enzimas que mais auxiliam na tarefa digestiva são as ribonucleases, lipases, oxidases e a amilase. Por ação química, a amilase salivar inicia a digestão dos hidratos de carbono ingeridos ao catalisar a hidrólise da ligação glicosídica α 1,4, transformando o amido em glicose, dando origem ao bolo alimentar. A amilase salivar mantém-se ativa em meios com pH neutro sendo inativada em meios com pH ácido, como o suco gástrico (Ferguson *et al.*, 1989).

3. A capacidade tampão da saliva neutraliza os ácidos que se acumulam na placa bacteriana, inibindo a formação da cárie dentária. Esta capacidade deve-se aos subcomponentes proteicos e inorgânicos da saliva. A estaterina, mucina, histatina, cistatina e proteínas ricas em prolina formam uma película de proteção por ligação à hidroxiapatite na superfície do dente. Esta película protege os dentes da desmineralização, favorece a remineralização e limita a agressão à superfície mineral. Existem vários sistemas tampão, baseados, fundamentalmente, nos iões HCO_3^- e PO_4^{3-} (Ericsson, 1959; Dawes, 1987; Ferguson *et al.*, 1989; Kavanagh *et al.*, 1998).

4. A saliva contém ambos os agentes imuno-mediados e não imuno-mediados que auxiliam na proteção de estruturas da cavidade oral. O principal mediador imunológico da saliva é a IgA e, em menor extensão, a IgG e a IgM. A principal acção da IgA é proteger o organismo contra os vírus que invadem o trato aerodigestivo. Estudos demonstraram que as moléculas de IgA também possuem capacidade de união a *streptococcus mutans*, facilitando, dessa forma, a agregação e a fagocitose de bactérias da cavidade oral. Pela agregação que provoca, evita a adesão bacteriana aos tecidos duros e moles orais, diminuindo o risco de cárie desses indivíduos. A IgG tem a capacidade de causar lise bacteriana, embora isto represente um mecanismo antibacteriano de menor relevância (Ericsson, 1959; Tenovuo, 1989; Kavanagh *et al.*, 1998). Os componentes não imunológicos incluem várias proteínas, como a lactoferrina, lisozima, peroxidase, aglutininas e mucinas, conferindo à saliva um efeito bactericida ou bacteriostático. A lisozima pode ativar autolisinas bacterianas capazes de destruir os componentes da parede celular, provocando a sua autólise. Em 1999, Dowd adicionou que a lisozima pode alterar o metabolismo da glicose em bactérias sensíveis, contribuindo para a eliminação bacteriana. Uma outra característica dessa enzima refere-se à sua capacidade de união à hidroxiapatite dentária e, dessa forma, exercer um papel antimicrobiano na superfície dentária. A apolactoferrina também apresenta atividade antimicrobiana pela sua afinidade ao ferro (Fe). Cada molécula une-se a dois átomos de Fe (lactoferrina) e elimina o Fe livre dos fluidos e das áreas inflamadas. Tal facto permite eliminar os danos provocados pelos radicais livres e diminuir a disponibilidade ou utilização desse metal pelos microrganismos patogénicos, conferindo-lhe efeito bacteriostático. Distinta da sua propriedade quelante, esta proteína também é detentora de efeito bactericida irreversível contra vários microrganismos, como o *streptococcus mutans*, através da sua ligação direta à superfície bacteriana. O sistema peroxidase encontrado na saliva humana é composto por duas enzimas: a peroxidase (produzida pelas células acinares glandulares) e a mieloperoxidase (com origem nos leucócitos do sulco gengival). As principais funções deste sistema são a atividade antimicrobiana e a proteção das proteínas e células contra a toxicidade do peróxido de hidrogénio. As aglutininas podem interagir com as bactérias e formar agregados com as mesmas, facilitando a remoção desses microrganismos da cavidade oral durante a deglutição. As mucinas executam função antibacteriana através da modulação da adesão de microrganismos às superfícies dos tecidos orais. A mucina adsorve fortemente ao dente e, assim, contribui para a película de esmalte, o que protege

o dente do ácido produzido pelas bactérias durante o metabolismo dos açúcares. Distintas formas heterotípicas de mucina contêm outras proteínas salivares, como a amilase, proteínas ricas em prolina, estaterina e histatinas. A função antimicrobiana da mucina, promovido pela agregação e *clearance* bacteriano, está fortemente relacionada com a capacidade tampão (Ericsson, 1959; Tenovuo, 1989; Kavanagh *et al.*, 1998).

5. A saliva e os seus subcomponentes desempenham um papel adicional na percepção do paladar. O principal papel da saliva no paladar é a solubilização de partículas de alimentos ingeridos, transporte de substâncias e proteção das papilas gustativas. A saliva neutraliza os ácidos, que de outra forma produziriam um gosto amargo, ao se ligar e neutralizar substâncias com sabor amargo. Finalmente, a saliva evita a desidratação dos recetores gustativos, garantindo a manutenção do sabor a longo prazo.

A saliva apresenta ainda o efeito de reparação e génese, por possuir fatores de crescimento (Nanci, 2003; Ross e Pawlina, 2005).

A Tabela 3 mostra os componentes salivares da saliva, as suas principais funções e ações.

Tabela 3: Principais componentes da saliva, respetivas funções e ações.

Função	Ação	Componentes salivares
Proteção	Lubrificação	Mucinas, proteínas ricas em prolina, água
	Limpeza	Água
	Isolamento térmico/químico	Mucinas
Antimicrobiana	Barreira física	Mucinas
	Defesa imune	IgA, IgG, IgM
	Defesa não-imune	Defensinas, lisozima, lactoferrina, peroxidase, mucinas, aglutininas, estaterina, proteínas ricas em prolina
Fator de crescimento		<i>Epidermal Growth Factor (EGF), Nerve Growth Factor (NGF)</i>
Integridade da mucosa		Mucinas, eletrólitos, água
Capacidade tampão		Bicarbonato, fosfato, proteínas
Remineralização		Cálcio, fosfato, estaterina, proteínas ricas em prolina
Digestão		Amilase, lipase, ribonuclease, proteases, água e mucinas
Paladar		Água, anidrase carbónica
Fala		Água, mucinas

II.6. Fluxo salivar

A secreção salivar está sobre controlo do sistema nervoso autónomo, sendo que os nervos simpáticos e parassimpáticos trabalham de maneira complexa e conjunta.

a. Ação do sistema parassimpático

Este sistema de controlo tem origem no bulbo cerebral, nos chamados núcleos salivares superior e inferior. Os núcleos possuem íntima relação com os neurónios motores dos nervos glossofaríngeo e facial. As fibras motoras do glossofaríngeo saem do núcleo salivar inferior e inervam as glândulas parótidas. As fibras motoras do nervo facial emergem do núcleo salivar, através do nervo lingual, passam posteriormente à corda do tímpano e inervam as glândulas submandibular e sublingual. Considerando os nervos da corda do tímpano e glossofaríngeo como integrantes do sistema parassimpático, a excitação desse sistema determina a estimulação da glândula salivar através do aumento da velocidade na formação da saliva, do consumo de oxigénio e da irrigação sanguínea da glândula. A taxa de metabolismo e o fluxo de sangue para as glândulas salivares é

elevada, proporcional à taxa de saliva segregada. Em perspectiva, o fluxo de sangue para uma glândula salivar em secreção máxima é aproximadamente 10 vezes maior do que o fluxo de sangue para uma massa igual de músculo esquelético em contração ativa (Gray, 2000; Cummings, 2011).

b. Ação do sistema simpático

O sistema simpático estimula a contratilidade das células mioepiteliais, que envolvem as regiões responsáveis pela produção de saliva. O resultado dessa estimulação é a expulsão da saliva pré-formada, aumentando transitoriamente o fluxo salivar. Alguns instantes depois, o fluxo salivar começa a diminuir devido à redução da irrigação sanguínea determinada pela vasoconstrição simpática. Sendo assim, quando há uma hiperatividade simpática a boca fica seca e a deglutição fica mais difícil.

As fibras simpáticas, quando estimuladas, produzem um aumento do fluxo da saliva aquosa (associada a ácinos serosos). A estimulação das fibras parassimpáticas origina a produção de saliva mucosa espessa (associada a ácinos mucosos). Assim, as glândulas parótidas possuem, maioritariamente, controlo nervoso simpático, enquanto que as submandibulares, sublinguais e a maioria das glândulas salivares menores apresentam inervação simpática e parassimpática (Gray, 2000; Nanci, 2003; Cummings, 2011).

O fluxo salivar é denominado não estimulado quando nenhum estímulo externo ou farmacológico é utilizado e estimulado quando a secreção é promovida por estímulos mecânicos, gustatórios ou por agentes farmacológicos (Kavanagh *et al.*, 1998).

O fluxo salivar no estado não estimulado é produzido principalmente pelas glândulas submandibulares (71%), com a parótida a contribuir 25% e as glândulas sublinguais 3-4% do fluxo, respetivamente. Logo, a estimulação das fibras eferentes parassimpáticas produz o maior fluxo salivar capaz de se obter de uma glândula (Cummings, 2011).

A saliva estimulada deriva maioritariamente das glândulas parótidas (60%-65%) mas, uma vez estimuladas as glândulas salivares *minor*, as contribuições relativas à parótida e às submandibulares são invertidas e a glândula parótida diminui em dois terços o seu fluxo salivar (Kavanagh *et al.*, 1998).

As funções antimicrobiana e de lubrificação são mantidas principalmente pela saliva não estimulada. A estimulação da saliva resulta num maior *clearance* dos detritos orais e agentes nocivos (Kavanagh *et al.*, 1998).

As taxas de fluxo salivar são altamente variáveis. De acordo com Dawes (1987) e Tenovuo (1989), o intervalo de fluxo salivar não estimulado normal é $\geq 0,25 \leq 0,35$ ml/min e, no estado estimulado, $\geq 1,0 \leq 3,0$ ml/min, totalizando uma secreção média diária de 1000-1500 ml. Nanci (2003), por sua vez, definiu o fluxo em repouso nos 0,2-04 ml/min e o estimulado entre 2 e 5 ml/min. De facto, os estudos que abordaram a hipofunção das glândulas salivares salientaram a dificuldade na definição do intervalo crítico que separa uma pessoa com função normal daqueles com hipofunção da glândula salivar, para taxas de fluxo salivar não estimulado.

II.6.i. Variação do fluxo salivar

A saliva é secretada de forma contínua. Essa secreção basal ou de repouso é responsável pela lubrificação constante da mucosa oral. Há, entretanto, uma permanente modificação do fluxo e da qualidade da saliva, de acordo com os estímulos que agem sobre as glândulas salivares:

- (1) Térmicos (calor/frio),
- (2) Mecânicos (mastigação) e
- (3) Químicos (gustativo e olfativo).

(1) Kavanagh *et al.* (1998), após avaliarem mensalmente o fluxo salivar de um grupo de 43 crianças, residentes numa região com clima temperado, durante 10 meses, concluíram que a variação no fluxo salivar foi inversamente associada à temperatura ambiente, ou seja, quanto maior a temperatura, menor foi o fluxo salivar encontrado.

(2) No caso de mastigação unilateral, as glândulas do lado mais utilizado respondem com mais secreção do que as do lado menos utilizado. A estimulação do fluxo salivar com a mastigação é uma resposta reflexa mediada por recetores na mucosa oral que estimulam o núcleo salivar. Este, por sua vez, aumenta a

estimulação parassimpática das glândulas salivares, resultando num aumento do fluxo salivar. Esse aumento é diretamente proporcional à força mastigatória.

- (3) A sensação gustativa agradável produzida pelos alimentos é o estímulo mais potente para o centro salivar, provocando um aumento do fluxo salivar até 10 vezes. A saliva é secretada em pequenas quantidades mas, a presença ou lembrança de certos alimentos, pode levar à formação de grandes quantidades de saliva. Os sabores ácidos provocam aumento do fluxo salivar, enquanto sabores doces são menos estimulantes. O olfato é o mais fraco dos estimuladores do centro salivar (Navazesh, 2008).

Variados autores defendem que 80-90% da produção diária de saliva é resultante de estimulação principalmente gustatória e mastigatória (Gray, 2000; Cummings, 2011). No entanto, muitos outros fatores podem influenciar o fluxo salivar (Tabela 4).

Tabela 4: Alguns fatores que influenciam o débito salivar.

Ritmo circadiano
Fatores psíquicos (dor, depressão e antecipação de alimentos/fome)
Medicamentos (quimioterapêuticos/antineoplásicos, antidepressivos, diuréticos, anti-histamínicos, narcóticos)
Distensão gástrica
Irritantes na mucosa oral
Próteses dentárias mal adaptadas
Doenças locais ou sistêmicas (Diabetes Mellitus, artrite reumatóide, Síndrome de Sjögren)
Hormonas
RT à região de cabeça e pescoço

Isolar e estudar o efeito de um fator específico é muitas vezes difícil, porque muitos destes estímulos trabalham de forma conjunta para afetar o débito salivar.

Fisiologicamente, à medida que o fluxo salivar diminui, a concentração das proteínas salivares aumenta e a concentração dos componentes inorgânicos varia. De acordo com

a literatura publicada, com o aumento do fluxo salivar há uma diminuição na concentração de PO_4^{3-} e um aumento na concentração de íons Ca^{2+} na saliva (Kavanagh *et al.*, 1998; Navazesh e Kumar, 2008). Ferguson *et al.* (1989) defenderam que, embora a concentração de Ca^{2+} aumente com o aumento do fluxo salivar, ela tende a permanecer constante em altas taxas de fluxo.

II.7. Capacidade tampão e regulação do pH salivar

De acordo com Ericsson (1959), as condições patológicas mais frequentes e importantes que envolvem os dentes são dependentes das alterações do pH da cavidade oral.

O valor de pH pode ser determinado através do método colorimétrico ou eletrométrico.

Na electrometria utiliza-se um potenciômetro que mede a concentração de hidrogénio (H^+), através da diferença de potencial elétrico entre duas soluções indicadoras. Embora complexo, a determinação do pH através do método eletrométrico parece ser o método de escolha em testes salivares.

Pela simplicidade dos testes colorimétricos, tem sido relatado na literatura a utilização destes testes pelo médico dentista no consultório. No entanto, a avaliação do pH final, feita visualmente através de uma escala de cor, torna o método subjetivo e menos preciso (Ericsson, 1959; Dowd, 1999).

De acordo com os valores apresentados por Nanci (2003), a saliva total tem um pH entre 6,78 e 7,4 e contém vários sistemas tampão. A capacidade tampão da saliva é a propriedade da saliva resistir a mudanças de pH, mantendo o pH constante. É conferida pelos sistemas tampão mucinato/mucina, $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ e, principalmente, pelo $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$, que bloqueiam o excesso de ácidos e bases. A concentração deste último varia de forma proporcional com o fluxo salivar, determinando um pH salivar mais alcalino com o aumento do débito salivar (Ericsson, 1959; Dowd, 1999).

O sistema HCO_3^- é mais importante em saliva recolhida após estimulação mecânica e é responsável por, aproximadamente, 85% da capacidade tampão salivar na faixa de pH

entre 6.8-7.2. O sistema PO_4^{3-} contribui para a capacidade tampão no fluxo salivar não estimulado e apresenta um pH de capacidade máxima de 6,1-6,3. Logo, uma saliva não estimulada apresenta, à partida, um valor de pH mais ácido, quando comparado com o estimulado, pela concentração de PO_4^{3-} (Ericsson, 1959; Dowd, 1999).

Pela interação dinâmica do dente com o meio oral e pela parceria da capacidade tampão com os iões Ca^{2+} e PO_4^{3-} , como referido, o objetivo de manter um pH salivar neutro interfere na homeostase da estrutura dentária (Ericsson, 1959).

Se se mantiver um pH salivar maior que 5,5, a composição da saliva em Ca^{2+} e PO_4^{3-} supera (supersaturado) o produto de solubilidade da hidroxiapatita. A tendência físico-química é o dente ganhar Ca^{2+} e PO_4^{3-} do meio oral. Deste modo, o pH 5,5 é chamado de *crítico*, pois até este limite o produto iónico das concentrações de Ca^{2+} e PO_4^{3-} na saliva da maioria dos indivíduos é maior do que a dos iões em equilíbrio de uma suspensão de hidroxiapatite (Ericsson, 1959; Dowd, 1999).

Quando se atinge um pH oral menor que 5,5, a composição da saliva em Ca^{2+} e PO_4^{3-} torna-se inferior (subsaturado) em relação ao produto de solubilidade da hidroxiapatite, e, deste modo, a tendência físico-química é o esmalte perder Ca^{2+} e PO_4^{3-} para o meio oral, na tentativa de atingir um novo estado de equilíbrio. Como consequência, ocorre dissolução do esmalte, através de um fenómeno de desmineralização (Ericsson, 1959; Dowd, 1999).

De forma dinâmica, o pH pode voltar ao normal, ocorrendo remineralização do esmalte. A capacidade da saliva manter o ambiente oral supersaturado relativamente à hidroxiapatite oferece um ambiente de proteção à estrutura dentária, onde a tendência é o esmalte ganhar Ca^{2+} e PO_4^{3-} do meio oral (Ericsson, 1959; Dowd, 1999).

II.8. Radioterapia no tratamento de tumores malignos de cabeça e pescoço

Segundo linhas de orientação internacionais, a RT constitui um tratamento de eleição para neoplasias de cabeça e pescoço. A RT pode ser de intuito radical ou ser complementar à cirurgia, combinada ou não com quimioterapia, dependendo do estadió (Constine *et al.*, 2008).

A RT é uma técnica terapêutica que recorre a feixes de radiação ionizantes para o tratamento de lesões malignas ou benignas. No tratamento de um tumor maligno, uma dose pré-calculada de radiação é aplicada a um volume alvo, com o intuito de irradiar e destruir todas as células tumorais, com o menor dano possível às células normais circunvizinhas, à custa das quais se fará a regeneração da área irradiada. Não obstante aos benefícios inerentes à utilização da RT, no que refere ao controlo local, o dano causado nos tecidos normais circundantes pode ser severo (Constine *et al.*, 2008; Hoppe *et al.*, 2010; International Atomic Energy Agency, 2010; Santos e Medeiros., 2011). O plano de RT ótimo será aquele capaz de responder a duas premissas:

- I) A dose prescrita deve ser a suficiente para que se consiga uma elevada probabilidade de controlo tumoral;
- II) O dano induzido nos tecidos normais circundantes deve ser mínimo, por forma a não alterar a sua arquitetura ou funcionalidade.

Na RT, o planeamento do tratamento inicia-se com a aquisição de imagens por Tomografia Computorizada (TC), onde se obtém a informação anatómica do doente. Segue-se o cálculo dosimétrico, baseado em algoritmos matemáticos, que estima a dose recebida pelo tumor e estruturas adjacentes, a partir da reconstrução das imagens de TC. O tratamento propriamente dito, efectua-se num acelerador linear (LINAC).

É na base deste planeamento que se insere a evolução da RT, orientada sobretudo pelo uso dos computadores no planeamento do tratamento e no próprio débito da radiação. Uma das primeiras fases desta nova geração baseia-se no aparecimento da Radioterapia Conformada Tridimensional (*Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy* - 3DCRT), possibilitada pela aquisição de imagens 3D pela TC e/ou pela Ressonância Magnética Nuclear (RMN), ambas também produtos da geração computadorizada.

Nos anos 90 surgiu a *Intensity-Modulated Radiation Therapy* (IMRT), técnica cuja modulação da intensidade da radiação implica que a fluência da radiação varie ao longo do campo, permitindo a administração da radiação com um nível muito mais elevado de conformação do alvo e maior poupança de tecidos e/ou órgãos em risco (23). Mais recentemente, surgiu uma evolução da IMRT que combina a conformação da dose por si proporcionada com a rapidez de um tratamento em arco, a *Volumetric Modulated Arc Therapy* (VMAT) (Constine *et al.*, 2008; Verbake *et al.*, 2009; Hoppe *et al.*, 2010).

II.8.i. Interação da radiação ionizante com a matéria

As radiações ionizantes transferem a sua energia para os tecidos biológicos ou para organismos vivos sobre o qual atuam, gerando um conjunto de eventos desde o primeiro momento de interação, resultando em danos biológicos:

- i. Fase física: tem a duração de uma fração de segundo e caracteriza-se pela deposição de energia na célula, provocando a ionização.
- ii. Fase físico-química: tem a duração também na ordem das frações de segundo e caracteriza-se pela lesão a macromoléculas vitais à célula ou pela cisão das moléculas de água, das quais resultam radicais livres que também provocam lesões nas macromoléculas.
- iii. Fase química: na qual as lesões bioquímicas podem tornar-se potencialmente letais.
- iv. Fase biológica: resposta do organismo à exposição dos produtos químicos da irradiação.

A radiação ionizante ao colidir com os átomos do tecido com que interage provoca a libertação de eletrões. Estes eletrões podem afetar a molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN), incapacitando a célula de se reparar. Este efeito designa-se de efeito direto da radiação (International Atomic Energy Agency, 2010).

As radiações também podem provocar danos à célula indiretamente. Neste caso, as radiações interagem com outras moléculas ou átomos da célula (sobretudo com moléculas de água) produzindo radicais livres. Os radicais livres são moléculas sem carga e com um eletrão desemparelhado na última camada, tornando-os bastante instáveis e reativos. Estes radicais livres têm a capacidade de provocar lesões a nível

molecular e, apesar do seu curto período de vida, podem difundir-se pela célula e causar danos nas células vizinhas (Constine *et al.*, 2008; International Atomic Energy Agency, 2010).

II.8.ii. Conceitos fundamentais em radiobiologia

A radiobiologia estuda a sequência de eventos que se seguem à absorção da energia, do esforço do organismo para compensar os efeitos daí decorrentes e dos danos que podem vir a ser produzidos, numa combinação de duas disciplinas: física da radiação e biologia.

As radiações ionizantes depositam uma certa quantidade de energia ao atravessar o material biológico, podendo gerar inúmeras e diferentes situações:

- As células são capazes de reparar os danos, funcionando normalmente;
- O dano pode ser irreversível, levando à morte da célula;
- A célula é danificada, no entanto, mantém a integridade reprodutiva; por sua vez, as células filhas apresentam lacunas nos seus componentes, provocando a sua morte;
- A célula pode ser afetada de tal forma que não morre mas sofre modificações. Estas células ao reproduzirem-se transmitem a mutação para os seus descendentes, o que poderá significar o começo de patologia oncológica (Suntharalingam *et al.*, 2010).

Assim, o dano provocado às células pela radiação pode ser classificado em três categorias (Suntharalingam *et al.*, 2010):

- Dano letal: irreversível, irreparável e conduz à morte celular;
- Dano subletal: pode ser reparado em horas a não ser que seja adicionado um outro dano subletal, conduzindo desta forma a um dano letal;
- Dano potencialmente letal: pode ser reparado se as células tiverem a possibilidade de permanecer num estado de não-divisão.

Quanto ao tipo de célula atingida e à quantidade de energia depositada, os efeitos biológicos da radiação podem ser classificados em (Suntharalingam *et al.*, 2010):

- Efeitos somáticos;
- Efeitos genéticos;
- Efeitos estocásticos;
- Efeitos determinísticos.

II.8.ii.a) Efeitos somáticos e efeitos genéticos

Os efeitos somáticos são os danos provocados nos indivíduos pelas diferentes exposições ao longo da sua vida. Apresentam-se apenas nas pessoas que sofreram a irradiação, não surgindo nas gerações posteriores (Suntharalingam *et al.*, 2010).

Os efeitos hereditários ou genéticos estão relacionados com as mutações genéticas que as radiações podem provocar e que poderão surgir nos descendentes do indivíduo que sofreu a irradiação (Suntharalingam *et al.*, 2010).

II.8.ii.b) Efeitos estocásticos e efeitos determinísticos

Segundo o *National Council on Radiation Protection and Measurements* (NCRP) os efeitos estocásticos são aqueles cuja probabilidade de ocorrência aumenta com o aumento da dose, no entanto, a sua gravidade não depende da dose. Como exemplos, existem a radiocarcinogénese e os efeitos genéticos. Não existe um limiar de dose para os verdadeiros efeitos estocásticos, porque estes efeitos surgem em células individuais e porque assume-se que existe sempre uma pequena probabilidade de ocorrer estes efeitos mesmo para pequenas doses. Por outras palavras, este tipo de efeito nunca apresenta uma probabilidade de ocorrência igual a zero (Suntharalingam *et al.*, 2010).

Nos efeitos determinísticos, segundo o NCRP, a gravidade do efeito provocado aumenta com o aumento da dose e verifica-se usualmente acima de um limiar de dosagem. Como exemplos pode-se referir a perda de funções de órgãos, fibrose, alterações sanguíneas, entre outras. Assim sendo, este tipo de eventos ocorre caso o dano provocado nas células do tecido seja representativo de doses superiores a um determinado limite, associado a morte celular (Suntharalingam *et al.*, 2010).

II.8.ii.c) Efeitos agudos e efeitos crónicos

Como resposta à radiação, os tecidos saudáveis podem desenvolver dois tipos de efeitos secundários: agudos e/ou tardios. Os agudos desenvolvem-se durante ou até poucas semanas após o tratamento e os tardios surgem meses ou anos após o término do tratamento. Embora cada órgão possa desenvolver os dois tipos de dano, pode ser mais propenso a um ou outro tipo de resposta. O desenvolvimento de cada tipo de dano encontra-se dependente de inúmeros fatores, de entre os quais se podem destacar parâmetros associados ao tratamento como a dose total, dose por fração, número de frações, intervalo entre frações, volume de tratamento, distribuição de dose, taxa de dose, uso concomitante de outras terapias ou parâmetros biológicos, dos quais são exemplo o órgão irradiado, a idade e a presença de fatores de risco associados (Constine *et al.*, 2008).

II.8.iii. Tipos de órgãos

Os órgãos podem apresentar dois tipos de arquitetura, sendo, em função disso, classificados como órgãos em paralelo ou órgãos em série. Os órgãos são classificados em série quando a lesão ocorre numa pequena porção do órgão, inviabilizando a sua função. Um órgão é denominado em paralelo quando é composto por várias subunidades e a lesão de uma subunidade compromete apenas a função orgânica nessa área, permanecendo as restantes funcionais. Para análise dosimétrica em RT, utiliza-se como parâmetro de análise valores de dose máxima (Dmax) para órgãos organizados em série e parâmetros dose-volume e dose mediana (Dmed) quando considerados órgãos cuja organização é em paralelo (Constine *et al.*, 2008).

II.8.iv. Efeitos adversos agudos induzidos pela RT em patologia oncológica de cabeça e pescoço

Os rápidos avanços nas técnicas de RT possibilitaram uma maior poupança dos tecidos normais. No entanto, a maioria dos doentes tratados com doses curativas desenvolvem efeitos agudos ao tratamento, o que requer a intervenção de um apoio multidisciplinar especializado. A maioria destes efeitos assume um comportamento gradual e

temporário. Iniciam-se, na sua grande maioria, entre a primeira e segunda semanas de tratamento e prolongam-se até 2-4 semanas após os tratamentos (Santos e Medeiros, 2011).

Por se tratar de uma área complexa, os danos nos tecidos da região de cabeça e pescoço geram complicações graves, fortemente associadas à diminuição da qualidade de vida do doente (Ortholan *et al.*, 2010).

Vários estudos têm demonstrado o aumento dos efeitos agudos em doentes que estejam a realizar RT com QT concomitante (Langendijk *et al.*, 2008).

Os efeitos agudos mais frequentemente observados na literatura atual em doentes submetidos a RT à região de cabeça e pescoço foram: eritema, descamação, mucosite, hipossalivação, xerostomia, alteração da consistência salivar, disgeusia, disfagia, odinofagia, rouquidão e infeções orais oportunistas. Na Tabela 5 encontram-se descritos os graus de toxicidade aguda para as glândulas salivares, apresentados pelo *Radiation Therapy Oncology Group* (RTOG) (Cox *et al.*, 1995).

Tabela 5: Critérios de toxicidade aguda radioinduzida nas glândulas salivares, segundo a classificação do RTOG.

	Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Glândula salivar	Sem alterações	Secura ligeira/ saliva ligeiramente espessa/ sabor metálico/ aumento do consumo de líquidos às refeições	Secura moderada a total/ saliva muito espessa/ disgeusia marcada	-----	Necrose aguda da glândula salivar

II.8.v. Dose e fracionamento da RT em patologia oncológica de cabeça e pescoço

Como foi referido, a RT quando administrada à região de cabeça e pescoço pode produzir complicações ao nível de vários tecidos, que se podem manifestar durante e/ou após completar o tratamento.

Cada tipo celular apresenta uma radiosensibilidade característica, sendo afetado com diferente severidade e em diferentes fases da terapia. Os grupos celulares com grande proporção de células em fase de duplicação (frequência de mitoses à qual se submetem) são considerados os mais radiosensíveis, pois o seu ADN está mais exposto à radiação. Assim, a radiosensibilidade tecidual é maior em tecidos indiferenciados e/ou com proliferação rápida, quando comparados com aqueles bem diferenciados e de proliferação lenta. Os dados apresentados por permitiram afirmar que as glândulas salivares são bastante radiosensíveis (Fig.5) (Rubin e Casarett, 1968; Redman, 2008).

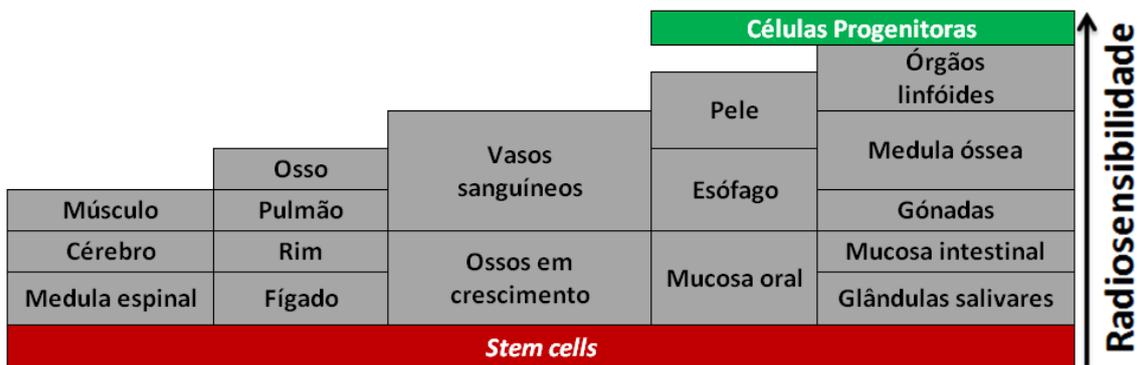


Fig.5: Radiosensibilidade de vários tecidos. Adaptado de Rubin e Casarett, 1968.

O Gray (Gy) é a unidade utilizada para medir o total da dose absorvida (1 Gy = 1Joule/kg). A dose específica para cada paciente depende da localização, estadió e histologia do tumor, ficando ao critério do radioncologista as decisões terapêuticas. No tratamento de tumores malignos da região de cabeça e pescoço com intuito adjuvante, as doses variam tipicamente entre 50 e 66 Gy e, 70 Gy num tratamento radical. A RT é administrada de forma fracionada, dividindo-se a dose total em iguais frações diárias, realizando-se, em média, um total de 28 a 35 aplicações, uma vez por dia, cinco dias por semana, ao longo de 5-7 semanas. O fracionamento contribui para a reparação de danos subletais das células normais e para o aumento da sensibilidade do tumor à radiação

pela redistribuição no ciclo celular. Por conseguinte, uma dose fracionada nas glândulas salivares não é equivalente a uma fração única com a mesma dose total (Constine *et al.*, 2008; Santos e Medeiros, 2011).

II.9. Fisiologia da disfunção glandular radioinduzida

A RT, quando aplicada na região de cabeça e pescoço, pode produzir alterações reversíveis e irreversíveis nas glândulas salivares.

A radiobiologia define o alfa (α) como sendo a radiosensibilidade intrínseca das células, ou seja, o número de células mortas (esterilizadas), de uma forma "não-reparável". O beta (β) representa a porção reparável do dano da radiação, exigindo no mínimo 6 horas para ocorrer reparação completa. Logo, numa relação α/β baixa, o β deve ser grande, significando que a capacidade de reparação é grande, assim como o tempo para a realizar. Isto indica que o ciclo celular é longo e que a proliferação tecidual é lenta, desencadeando reações mais tardias. Franzen *et al.* demonstraram em ratos uma proporção α/β alta, de ≈ 20 Gy para efeitos precoces nas glândulas parótidas. A experiência clínica do grupo *Continuous hyperfractionated accelerated radiotherapy* (CHART) sugeriu que o hiperfracionamento (aumento do número de frações diárias mas a mesma dose/dia) tem um efeito protetor no que diz respeito a efeitos tardios, consistente com uma relação α/β baixa. No entanto, em macacos rhesus, a redução do número de células acinares às 16 semanas após RT foi pior no grupo CHART, comparativamente ao fracionamento convencional (1,8-2 Gy/dia), consistente com uma razão α/β relativamente elevada. Assim, parece que os efeitos agudos têm um elevado rácio α/β e os tardios (dependendo da recuperação das células estaminais) têm uma baixa relação α/β (Franzen *et al.*, 1992; Franzel *et al.*, 2006; Deasy *et al.*, 2010).

Através da análise de modelos biológicos, as consequências radioinduzidas mais frequentemente observadas foram reduções significativas no débito salivar, perda de peso glandular e perda de áreas acinares (Berk *et al.*, 2005; Dijkema *et al.*, 2010).

O mecanismo de dano radioinduzido nas glândulas salivares foi analisado cuidadosamente por diversos autores. Em ambas as glândulas salivares, humanas e de

modelos biológicos, os ácinos serosos foram os mais instáveis quando sujeitos a radiação. O dano nestas células tem sido atribuído à geração de radicais livres por intermédio de íons metálicos, como o cobre (Cu), Fe, manganésio (Mn) e zinco (Zn), contidos nas suas proteínas secretoras. Parece, no entanto, que a maioria dos danos ao ADN exigiria que estes íons estivessem em estreita proximidade com o núcleo (Konings *et al.*, 2006; Dijkema *et al.*, 2010).

Uma vez que as células acinares serosas são responsáveis por ~80% do débito da glândula parótida e pela secreção de água e proteínas, o dano radioinduzido resulta na diminuição do débito salivar. A diminuição na produção salivar que surge durante os primeiros dias após uma baixa dose única ou as primeiras doses fracionadas não é aparentemente devido à morte imediata, mas à disfunção generalizada das células acinares, porque os danos causados no ADN não são suficientemente graves para causar a morte imediata das células. No entanto, os danos reparados de forma indevida podem ser o suficiente para interferir com a atividade proliferativa futura ou causar a morte tardia (Deasy *et al.*, 2010).

A baixas doses (6-16 Gy), pode ocorrer regeneração após o dano ou sobrevivência da inervação secretora e das células acinares mas, quando se aplicam doses altas (≥ 60 Gy), o ácino seroso da glândula parótida praticamente desaparece e pouca ou nenhuma regeneração ocorre. A explicação mais plausível para a fraca recuperação das células acinares após RT de altas doses é que estas células e os seus progenitores sofrem depleção por mitoses repetidas, na tentativa de substituição celular (Deasy *et al.*, 2010).

Num estudo efectuado por Braam *et al.* (2005), um subgrupo de indivíduos cujas glândulas salivares receberam doses de RT inferior a 25 Gy, ocorreu recuperação da função salivar 12-24 meses após o tratamento. No entanto, alguns indivíduos apresentaram hipofunção glandular permanente ou crónica, atribuída à perda e substituição das células acinares serosas por tecido fibrótico.

A degeneração e necrose que ocorre nos ácinos das glândulas mucosas sublinguais e submandibulares são menos extensas e pode ocorrer alguma regeneração (Leslie e Dische, 1994).

Parecem existir razões adicionais para a perda funcional das glândulas salivares, induzida pela radiação, como danos à inervação, vasos sanguíneos e estroma (Leslie e Dische, 1994).

Na literatura publicada aparece referida a ocorrência de edema e perda de vesículas em terminações nervosas, em glândulas submandibulares de ratos, 70 dias após a administração de doses únicas de 20, 25 ou 30 Gy. Este dano foi interpretado como suficiente para causar a perda de estimulação, contribuindo para a morte de células acinares (Leslie e Dische., 1994).

Em estudos publicados foi observado que, após tratamentos de cancro da tiróide com iodo 131 (I131), o endotélio dos vasos sanguíneos foi suscetível a danos causados pela radiação, comprometendo o fornecimento sanguíneo. Ocorreu também espessamento dos componentes da matriz extracelular em resposta a doses elevadas. Estas alterações estromais podem restringir a difusão de nutrientes, minerais essenciais e oxigénio (O₂) para as células do parênquima e afetar adversamente as tentativas de regeneração e de sobrevivência das células acinares (Roesink *et al.*, 2005; Ortholan *et al.*, 2010).

O estudo anatomopatológico de peças cirúrgicas de pacientes submetidos a altas doses (9-20 Gy) no tratamento de tumores malignos na faringe revelou infiltração neutrofilica e eosinofílica, nos tecidos intersticiais dos tecidos acinares serosos. Foram também observadas células necróticas nos ductos (Stephens *et al.*, 1989; Bussels *et al.*, 2004).

Depois da RT à região de cabeça e pescoço, alguns autores mostraram que o limiar de sabor aumenta no primeiro mês mas recupera para valores basais normais 6 meses após. Estes resultados indicam que as células neuroepiteliais (responsáveis pelo sabor), terminações nervosas, ou ambos, foram destruídos ou danificados pela radiação (Stephens *et al.*, 1986; Stephens *et al.*, 1989; Ortholan *et al.*, 2010).

Clinicamente, durante o período agudo pode surgir edema das glândulas salivares após a administração de uma dose de radiação elevada. Estas alterações são, predominantemente, devido a um aumento da permeabilidade dos capilares e pode ocorrer tão cedo quanto 4 horas após. Durante um curso de RT fracionada, no entanto, este efeito é menos pronunciado (Robar *et al.*, 2007; Osorio *et al.*, 2008). Alguns

autores indicaram que uma dose única de 1-4 Gy resultaria em hiperamilasemia, num período de 24 a 72 horas, com um pico de atividade entre as 9 e 48 horas. Durante este período, o aumento do nível de amilase pode ser tanto como 10 a 20 vezes acima dos níveis pré-irradiação, dependendo do fluxo salivar. Como seria previsível, a excreção urinária da amilase também aumenta (Leslie e Dische, 1992).

Durante o período subagudo (3-6 meses após RT), os sialogramas sugerem diminuição do preenchimento dos ductos e, usando citrato de gálio 67, foi possível observar algumas mudanças inflamatórias, até 8 meses pós-irradiação. Por ser um órgão em paralelo, assumiu-se que, uma vez esterilizada a população de células estaminais, em determinada porção, se daria a repopulação por parte das subunidades circundantes, na tentativa de estabelecer o tamanho e função iniciais (Leslie e Dische, 1992; Lee *et al.*, 2012).

A presente literatura refere que, na fase crônica, ocorre atrofia glandular (Osorio, 2008). No entanto, Robar *et al.* relataram essa ocorrência no decorrer do tratamento. Com base na TC semanal de 15 pacientes, descreveram que as glândulas parótidas irradiadas atrofiaram durante a RT, presumivelmente devido à perda de células. Estes autores observaram diminuição do tamanho global da glândula parótida de, aproximadamente 1 mm/semana, resultando em deslocamentos médios de 4-6mm, durante o curso total da RT (Robar *et al.*, 2007).

Para além dos mecanismos de lesão radioinduzidos, associados ao dano salivar, foram ponderadas mais duas hipóteses. A primeira teoria formula a hipótese do dano decorrer de processos de apoptose celular. Embora muitas vias de sinalização intracelular envolvidas na regulação da apoptose sejam semelhantes, há diferenças celulares e tecidulares específicas que podem, em parte, explicar a radiosensibilidade das glândulas salivares. Uma molécula importante na regulação da radiosensibilidade é o p53, que está intrinsecamente envolvido na reparação de danos do ADN, interrupção do ciclo celular e apoptose. A administração de 5 Gy de radiação ionizante pode induzir a ativação da transcrição do p53 e a apoptose de células acinares salivares de ratos *in vitro* e *in vivo* (Stephens *et al.*, 1992; Hoebbers *et al.*, 2008; Redman, 2008).

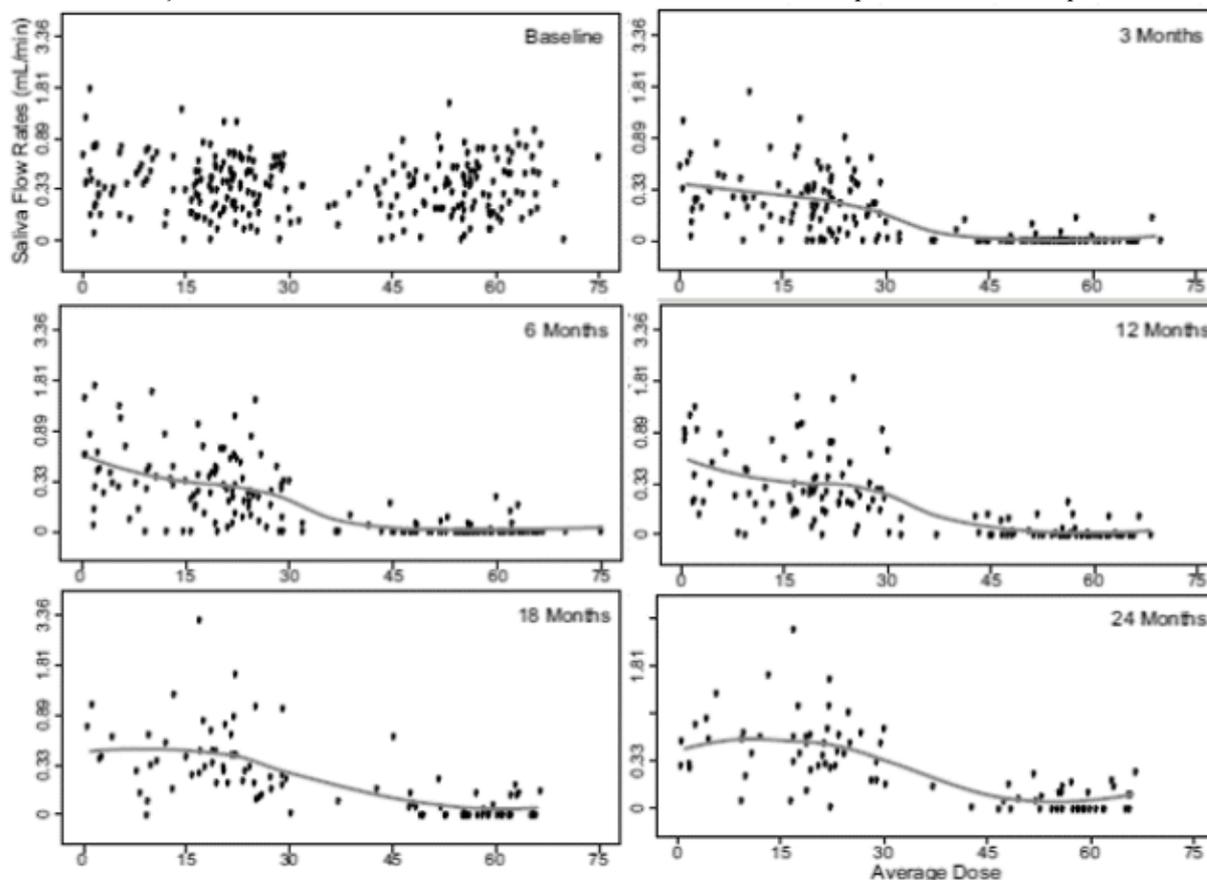
A segunda teoria baseia-se em estudos *in vitro*, que demonstraram que alterações no microambiente celular (pelo contacto com células necróticas) se relacionam mais com o desenvolvimento de efeitos secundários, do que a exposição à radiação propriamente dita. Estas investigações foram complementadas por outras que demonstraram que células não irradiadas colocadas em contacto com células irradiadas, desenvolveram efeitos tardios típicos de células expostas à radiação. Tais dados sugerem a necessidade de se analisar o comprometimento da função de um órgão, não apenas em função do dano nele infligido mas também nos tecidos circundantes expostos (Stephens *et al.*, 1992; Hoebbers *et al.*, 2008; Redman, 2008).

II.10. Impacto da RT no fluxo salivar

As reduções persistentes do fluxo salivar, que sugerem disfunção glandular, foram relatadas em vários estudos.

Devido à baixa taxa de *turnover* das células das glândulas salivares (o tempo de divisão celular é 60-120 dias) seria expectável que o dano ao nível destas estruturas ocorresse tardiamente (≥ 60 dias) mas, como já foi referido, os danos ao nível das glândulas salivares podem surgir na primeira semana de tratamento pela disfunção das células serosas (Gráfico 2) (Nagler, 1998; Li *et al.*, 2005; Konings *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2007).

Gráfico 2: Relação entre a dose média e o fluxo salivar estimulado *baseline* e o período de follow-up.



(Fonte: Li, Y., *et al.* (2007). The impact of dose on parotid salivary recovery in head and neck cancer patients treated with radiation therapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 67(3), pp. 660–669.)

Da análise do Gráfico 2 é perceptível a redução da função da glândula parótida a partir dos 10-15 Gy e que quanto maior a dose de exposição, maior a redução do fluxo salivar sendo que, esta redução se torna mais evidente para doses superiores a 25 Gy. Para doses superiores a 40 Gy ocorre uma redução grave da função da glândula. O mesmo estudo demonstrou que para doses acima dos 25 Gy a recuperação do fluxo salivar tornou-se menos significativa, não se observando recuperação total do fluxo salivar para nenhum dos doentes estudados. Foi ainda possível concluir que, com o evoluir do período de *follow-up* houve recuperação, sendo esta mais ou menos evidente.

Há investigações que sustentam que a glândula salivar parótida, por não ser homogênea, é mais suscetível à hipofunção/disfunção quando a sua porção mais craniana é danificada (Konings *et al.*, 2006). Dados histológicos revelaram que, por serem essencialmente compostas por células pós-mitóticas, as células parenquimatosas e

ductais (das glândulas) são relativamente resistentes aos efeitos determinísticos da radiação. Todavia, os ductos excretores da parótida são compostos por células vegetativas intermitóticas e, conseqüentemente, mais radiosensíveis. Sabe-se, da anatomia, que, na porção craniana, se localizam os ductos secretores da referida glândula, podendo explicar a sua maior sensibilidade à radiação. Estes estudos experimentais sugeriram que, a maior influência da parte craniana no comprometimento do fluxo salivar se deve à lesão de vasos sanguíneos, ductos e neurónios (Konings *et al.*, 2006). Em 7 dos 15 indivíduos estudados por Bussels *et al.* (2004), houve uma perda significativa de função em doses baixas (10-15 Gy), correspondente à porção craniana da glândula.

Há autores que sugerem que, durante o planeamento dos tratamentos, se deve tentar minimizar a dose de radiação em ambas as parótidas. Quando não é possível proteger ambas as glândulas, tenta-se limitar o mais possível a dose na glândula contralateral à localização do tumor ou área de maior risco de doença, para assegurar pelo menos uma porção funcionante no processo de produção salivar. Contudo, Li *et al.* (2007), afirmaram que, em geral, parece não haver compensação na produção salivar pela glândula contralateral.

Considerando as glândulas como órgãos em paralelo, utiliza-se a Dmed na parótida como parâmetro de análise dosimétrica em RT, para a previsão da redução da produção salivar. O grupo *Quantitative Analysis of Normal Tissue Effects in the Clinic* (QUANTEC) sugere como parâmetros:

- I) dose mediana inferior a 20 Gy em pelo menos uma das glândulas parótidas;
- II) dose mediana inferior a 25 Gy em ambas as parótidas (Moiseenko *et al.*, 2012).

Relativamente às glândulas salivares submandibulares, ocorre diminuição acentuada da produção salivar para doses superiores a 39 Gy. Neste intervalo de dose, a recuperação da função salivar estimulada é modesta mas bastante reduzida quando considerado o fluxo salivar não estimulado (Murdoch-Kinch *et al.*, 2008; Ortholan *et al.*, 2010).

A maioria dos dados recolhidos sugere uma maior radiorresistência das glândulas submandibulares quando comparadas com as parótidas, já que, embora o dano se tenha

desenvolvido em períodos semelhantes aos das parótidas, as submandibulares são expostas a maiores doses de radiação. Contudo, outros autores consideram que as diferenças não são significativas (Burlage *et al.*, 2001; Jellema *et al.*, 2007; Murdoch-Kinch *et al.*, 2008).

III. Resultados

O total de indivíduos que participaram neste estudo foi 35 (34 do género masculino e 1 do género feminino), com idades compreendidas entre os 40 e 81 anos (mediana = 59 anos).

Relativamente à localização do tumor primário, a laringe foi a mais frequente (31,4%), seguida pela hipofaringe (14,3%) e orofaringe (14,3%). A localização menos frequente foi a nasofaringe (5,7%) (Tabela 6).

Tabela 6: Localização do tumor primário.

Local Tumor 1º	Seios perinasais	n	3
		%	8,6%
	Nasofaringe	n	2
		%	5,7%
	Orofaringe	n	5
		%	14,3%
	Laringe	n	11
		%	31,4%
	Hipofaringe	n	5
		%	14,3%
	Mets cervicais 1º oculto	n	3
		%	8,6%
	Cavidade Oral	n	6
		%	17,1%

O tipo histológico mais prevalente foi o carcinoma espinocelular, com 92%, seguido do adenocarcinoma nos restantes 8% da amostra.

Do total da amostra, 42,9% (n=15) dos indivíduos tinham tumores classificados como T4, 28,6% dos doentes (n=10) tinham tumores T3 e 20% (n=7) tinham tumores T2. Dos indivíduos estudados, 8,6% (n=3) apresentava tumores classificados como T0 (todos os

indivíduos com diagnóstico de metástases cervicais de tumor primário oculto). Nenhum doente apresentou tumor T1 (Tabela 7).

Tabela 7: Estadio T.

Estadio T	T0	n	3
		%	8,6%
	T1	n	0
		%	,0%
	T2	n	7
		%	20,0%
	T3	n	10
		%	28,6%
	T4	n	15
		%	42,9%

Relativamente ao estadio ganglionar da AJCC, 48,6% dos indivíduos (n=17) foram estadiados como N2a-b e 22,9% (n=8) como N0 (Tabela 8).

Tabela 8: Estadio N.

Estadio N	0	n	8
		%	22,9%
	N0	n	2
		%	5,7%
	N1	n	1
		%	2,9%
	N2a-b	n	17
		%	48,6%
	N2c	n	6
		%	17,1%
	N3	n	1
		%	2,9%

Relativamente ao estadio M, nenhum indivíduo da amostra apresentava metástases à distância (M1).

Todos os doentes foram submetidos a RT com fótons de energia 6 Megavolt (MV), pela técnica VMAT. A dose total de radiação administrada variou entre 50 e 70 Gy, fracionada em doses de 1.8 a 2.1 Gy/dia. Do total da amostra, 88,6% (n=34) dos indivíduos efetuaram QT concomitante.

A avaliação da média do pH inicial, registada antes do tratamento, foi 6,69. Após a aplicação de 15 frações, a média do pH baixou para 6,37. Na última avaliação, obtida depois de terminado o tratamento, a média do pH foi 6,31 (Gráficos 3, 4 e 5).

Gráfico 3: Valor de pH inicial.

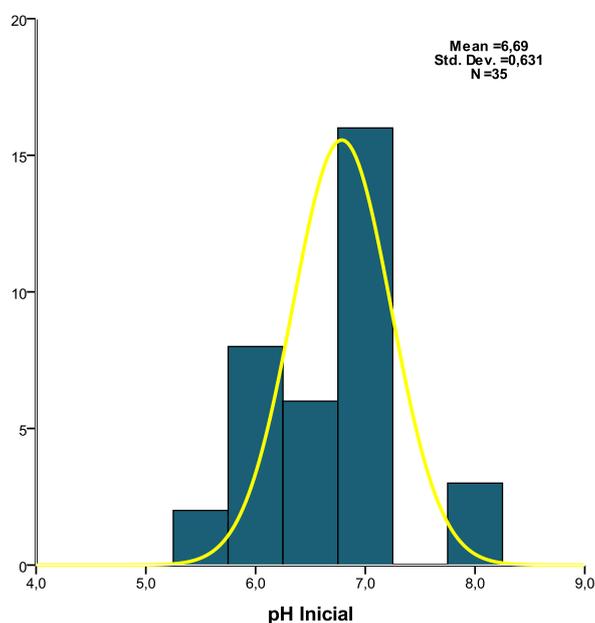


Gráfico 4: Valor de pH após 15 frações.

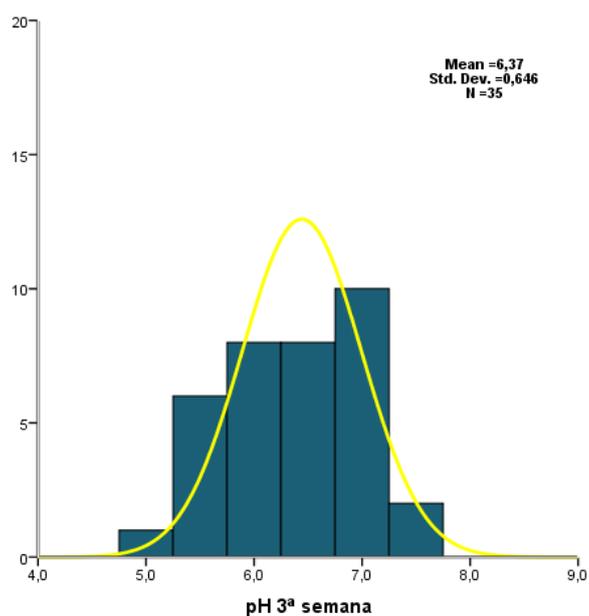
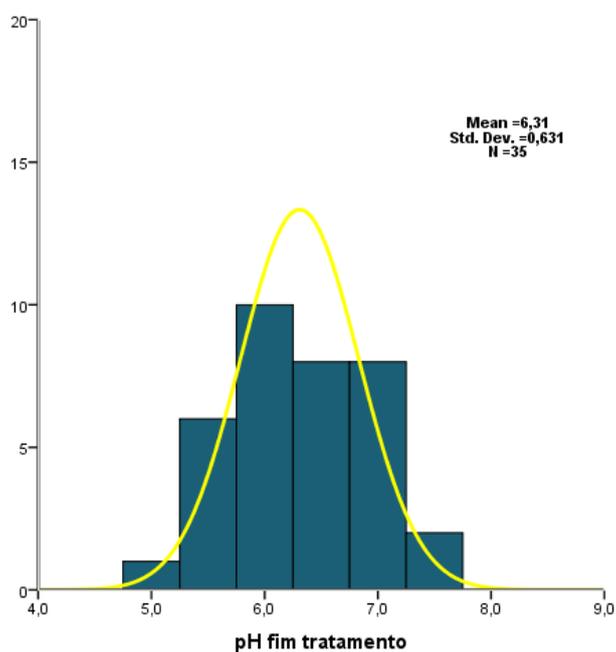


Gráfico 5: Valor de pH final.



Observou-se um indivíduo com pH salivar dentro da chamada faixa de *pH crítico* durante as três avaliações.

As Tabelas 9, 10 e 11 mostram o valor de pH médio, com base na dose mediana recebida pelas parótidas, definida pela *QUANTEC*. Os doentes com dose mediana na parótida direita superior a 20 Gy apresentaram 6,731, 6,308 e 6,231 de valor médio do pH na avaliação inicial, à 3ª semana e final, respetivamente. Os doentes com dose mediana na parótida direita inferior a 20 Gy apresentaram 6,556, 6,506 e 6,5 de valor médio do pH na avaliação inicial, à 3ª semana e final, respetivamente. As diferenças encontradas não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$) (Tabela 9).

Tabela 9: Valor de pH médio, de acordo com a dose mediana na parótida direita.

	Dmediana Parótida direita (Gy)	N	Média	Valor p
pH inicial	$\geq 20,0$	26	6,731	0,481
	$< 20,0$	9	6,556	
pH 3ª semana	$\geq 20,0$	26	6,308	0,328
	$< 20,0$	9	6,506	
pH final	$\geq 20,0$	26	6,231	0,187
	$< 20,0$	9	6,500	

Os doentes com dose mediana na parótida esquerda superior a 20 Gy apresentaram 6,7, 6,38 e 6,26 de valor médio do pH na avaliação inicial, à 3ª semana e final, respetivamente. Os doentes com dose mediana na parótida esquerda inferior a 20 Gy apresentaram 6,65, 6,35 e 6,45 de valor médio do pH na avaliação inicial, à 3ª semana e final, respetivamente. As diferenças encontradas não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$) (Tabela 10).

Tabela 10: Valor de pH médio, de acordo com a dose mediana na parótida esquerda.

	Dmediana Parótida esquerda (Gy)	N	Média	Valor p
pH Inicial	≥ 20,0	25	6,700	0,836
	< 20,0	10	6,650	
pH 3ª semana	≥ 20,0	25	6,380	0,903
	< 20,0	10	6,350	
pH final	≥ 20,0	25	6,260	0,429
	< 20,0	10	6,450	

Os doentes com dose mediana superior a 25 Gy, no conjunto das parótidas, apresentaram 6,738, 6,357 e 6,167 de valor médio do pH na avaliação inicial, à 3ª semana e final, respetivamente. Os doentes com dose mediana em ambas as parótidas inferior a 25 Gy apresentaram 6,607, 6,393 e 6,536 de valor médio do pH na avaliação inicial, à 3ª semana e final, respetivamente. As diferenças encontradas não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$) (Tabela 11).

Tabela 11: Valor de pH médio, de acordo com a dose mediana no conjunto das parótidas.

	Dmediana Ambas Parótidas (Gy)	N	Média	Valor p
pH Inicial	> 25,0	14	6,738	0,555
	< 25,0	21	6,607	
pH 3ª semana	> 25,0	14	6,357	0,875
	< 25,0	21	6,393	
pH final	> 25,0	14	6,167	0,09
	< 25,0	21	6,536	

IV. Discussão

O aumento do ganho terapêutico, isto é, o incremento do diferencial entre o controlo tumoral e os efeitos secundários, é o principal objetivo das terapias oncológicas.

Atualmente, a RT no tratamento de tumores malignos da região de cabeça e pescoço está associada a uma elevada morbidade, com impacto na qualidade de vida do doente (Constine *et al.*, 2008; Santos e Medeiros, 2011).

A manifestação dos efeitos agudos radioinduzidos pode ser influenciada por diversos fatores, nomeadamente, fatores inerentes ao próprio paciente (radiossensibilidade intrínseca) ou fatores externos ao doente (técnica de RT utilizada, fracionamento, dose, volume de tratamento, área irradiada e terapias associadas) (Lett *et al.*, 1994).

Os vários estudos efetuados revelaram que os principais mecanismos de danos celulares radioinduzidos são a morte celular e o dano na microvascularização e inervação locais. (Stephens, 1986; Stephens, 1989; Nagler, 1998; O'Connell *et al.*, 1999; Limesand, 2009)

Quando as glândulas salivares são submetidas ao stress causado por elevadas doses de radiação, não só ocorre disfunção das células acinares como também um declínio na capacidade proliferativa e na diferenciação funcional das células sobreviventes. Está também descrito que ocorre atrofia glandular e alterações dos ductos salivares, afetando tanto a composição como o volume da saliva. (Henson *et al.*, 1999; Li, 2005; Dirix *et al.*, 2006; Robar *et al.*, 2007; Hoebbers *et al.*, 2008)

Como as glândulas salivares, principalmente a parótida, são frequentemente irradiadas, numerosos estudos têm definido limites de dose para as glândulas parótidas, com o intuito de minimizar os efeitos secundários. Entre 1994 e 1997, na Universidade de Michigan, realizou-se o primeiro ensaio clínico com a RT *conformal* a poupar porções das parótidas durante a irradiação da região de cabeça e pescoço. Este e estudos posteriores demonstraram que é possível poupar as glândulas parótidas, utilizando técnicas de IMRT ou VMAT (Chao *et al.*, 2001; Eisbruch *et al.*, 2001; Dijkema *et al.*,

2008; Murdoch-Kinch *et al.*, 2008; Hey *et al.*, 2009; Verbakel *et al.*, 2009; Beetz *et al.*, 2012). No presente estudo, todos os indivíduos foram tratados com a técnica VMAT. No estudo realizado, a média de pH registada antes do tratamento de RT foi 6,69, baixando para 6,37 após 15 frações (pH intermédio) e para 6,31 depois de terminado o tratamento (pH final).

Na avaliação por subgrupos, e baseada nas linhas de orientação oferecidas pela QUANTEC, embora não haja uma relação estatisticamente significativa ($p > 0,05$), parece haver uma tendência para ocorrer uma diminuição mais acentuada do valor de pH durante a RT nos doentes que recebem uma dose superior a 20 Gy numa parótida isolada ou superior a 25 Gy no conjunto das duas parótidas, o que está de acordo com a literatura publicada (Tabelas 9, 10 e 11).

Vários autores demonstraram que os efeitos laterais nas glândulas parótidas são dose-dependente, isto é, quanto maior a dose recebida pelo órgão, mais severos são os danos agudos e tardios (Roesink *et al.*, 2005; Li, 2007; Deasy *et al.*, 2010; Houweling *et al.*, 2010; Ortholan *et al.*, 2010).

Com base na QUANTEC, doses medianas superiores a 20 Gy em cada uma das glândulas parótidas ou 25 Gy no conjunto das parótidas, podem provocar disfunção do órgão a longo prazo (Moiseenko *et al.*, 2012).

Bussels *et al.* (2004), através de cintigrafia da glândula parótida, combinada com *Single-Photon-Emission Computed Tomography* (SPECT), estimaram que a dose mediana que resulta na perda de 50% da fração de secreção salivar foi 22,5 Gy.

Eisbruch *et al.* (1999) e Li *et al.* (2007) definiram que a exposição diária deve ser mantida nos 2 Gy, aproximadamente, com uma dose cumulativa de 24-26 Gy para permitir a recuperação da função salivar.

Através da análise de modelos *Normal Tissue Complication Probability* (NTCP), alguns estudos verificaram que a irradiação da glândula parótida com doses superiores a 38-40 Gy acarreta uma probabilidade de 50% de complicações irreversíveis aos 5 anos (Beetz *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2012).

A diferente radiosensibilidade das porções craniana e caudal da parótida não foi avaliada neste estudo pela dificuldade na delimitação em imagens de TC de planeamento (sem contraste).

As demais variáveis abordadas neste estudo, nomeadamente a idade, o género, o tipo histológico e a localização anatómica do tumor primário, não mostraram qualquer tipo de relação ou tendência associada ao valor de pH salivar.

A saliva humana não só lubrifica os tecidos orais, proporcionando funções orais como a fala, a mastigação, a deglutição e a digestão, como também protege os dentes e as superfícies das mucosas orais. Embora o presente estudo não tenha incluído a avaliação quantitativa do débito salivar, a literatura publicada sugere que ocorre hipossalivação durante e após o tratamento de RT, como resultado da disfunção glandular. Em conjunto com as alterações da composição da saliva, estes dois factores têm sido apontados como causa da alteração do pH durante os tratamentos de RT (Roesink *et al.*, 2001; Dirix *et al.*, 2006; Jellema *et al.*, 2007; Randall *et al.*, 2013).

Os principais determinantes inorgânicos do valor de pH são o Ca^{2+} e o PO_4^{3-} . Uma saliva não estimulada apresenta, à partida, um valor de pH mais ácido, quando comparado com o estimulado, pela concentração de PO_4^{3-} na saliva não estimulada. Pode existir variabilidade interindividual dos valores de pH pelas diferentes concentrações de PO_4^{3-} e Ca^{2+} na saliva total (Dawes, 1987).

A diminuição do volume e qualidade da saliva total, para além de provocar desidratação dos tecidos orais e alterar o pH salivar, pode alterar a ação protetora do efeito tampão (Dawes, 1987).

Uma vez que a maior parte da capacidade tampão durante a mastigação e ingestão de alimentos é devida ao sistema HCO_3^- (com base no equilíbrio $\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$), em situações normais, taxas de fluxo salivar elevadas combinadas com um aumento da concentração de HCO_3^- na saliva, induzem aumento da capacidade tampão e *clearance* da saliva. Em contrapartida, um baixo débito salivar combinado com um baixo ou moderado efeito tampão indica fraca resistência salivar contra ataques microbianos. Como consequência, os tecidos orais tornam-se mais suscetíveis a

infecções; a fala, a mastigação e a deglutição tornam-se difíceis e dolorosas; e os dentes ficam fortemente suscetíveis à cárie, especialmente na região cervical (Wescott *et al.*, 1978; Vissink *et al.*, 2003; Langendijk *et al.*, 2008).

Vários autores defendem a análise do fluxo salivar, da capacidade tampão e do valor de pH como factores preditivos do risco de desenvolvimento de cárie (Franzel *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2009; Sreebny e Vissink, 2010).

A cárie dentária, segundo alguns autores, consiste na principal consequência da acidificação do pH salivar, relacionada com alterações na quantidade e qualidade da saliva (Nikiforuk *et al.*, 1985; Dawes, 1987; Dowd, 1999; Aguiar *et al.*, 2009).

Sabe-se que o dente interage dinamicamente com o meio oral, numa tentativa de garantir o equilíbrio dos componentes inorgânicos. Quando o pH da placa bacteriana e da saliva se encontra acima de 5,5, a saliva está supersaturada tanto em relação à hidroxiapatite como à fluorapatite, ocorrendo formação desses dois cristais. A um pH salivar e da placa entre 5,5 e 4,5, a saliva continua supersaturada em relação à fluorapatite (ocorre formação desse cristal na superfície do esmalte), porém, subsaturada em relação à hidroxiapatite e, conseqüentemente, ocorre dissolução deste na subsuperfície do esmalte, dando início à lesão cariosa. A pH salivar e do fluido da placa abaixo de 4,5, ocorre dissolução tanto da hidroxiapatite quanto da fluorapatite na superfície do esmalte, causando erosão dentária. Assim, considera-se que a erosão e cárie dentárias, caracterizadas pela dissolução dos tecidos duros dos dentes, são causadas, principalmente, por uma diminuição no valor do pH do fluido que envolve as peças dentárias (Karmioli *et al.*, 1975; Anneroth *et al.*, 1985; Nikiforuk *et al.*, 1985; Kielbassa *et al.*, 2006; Aguiar *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2009). A desmineralização dentária está, habitualmente, associada a piores propriedades mecânicas da estrutura dentária (Franzel *et al.*, 2006).

Na presente amostra, observou-se apenas um indivíduo com valores de pH salivar dentro da chamada faixa de *pH crítico* (<5,5).

Deste modo, é essencial que a saliva apresente uma composição e fluxo que protejam a estrutura dentária contra a desmineralização. Do ponto de vista da prevenção da cárie, o

Ca^{2+} e o PO_4^{3-} participam no equilíbrio dos tecidos dentários duros e líquido adjacente e influenciam a constituição da estrutura dentária, porque ambos pertencem à unidade do principal componente inorgânico do dente – a hidroxiapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) (Dawes, 1987).

De acordo com literatura publicada, indivíduos com baixa concentração de Ca^{2+} na saliva apresentam *pH crítico* e, conseqüentemente, são mais suscetíveis à desmineralização do que indivíduos que apresentem maior concentração salivar desse íon (Navazesh e Kumar, 2008; Sreebny e Vissink, 2010).

De acordo com Dawes (1987), a magnitude da diminuição do pH é determinada pela quantidade de ácido produzido pelas bactérias e pela capacidade tampão, em que esta última tenta neutralizar a acidez.

Ericsson (1959) avaliou 21 relatórios publicados até 1956 e concluiu que existe uma relação inversa entre a capacidade tampão e a experiência de cárie.

Tenovuo (1987) indicou que o grau de resistência ao desafio cariogênico, oferecido pela saliva, depende da atividade antimicrobiana, da capacidade de aglutinação de bactérias, da habilidade de prevenir a adesão bacteriana à hidroxiapatite, do fluxo salivar, da concentração de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} e da capacidade tampão, estando, estes últimos, fortemente relacionados com o pH salivar. Segundo este autor, o fluxo salivar é o parâmetro com maior impacto no desenvolvimento de cárie, referindo que quanto maior for a quantidade de saliva segregada, maior será a proteção do indivíduo contra a acidez e mais rapidamente ocorre diluição das substâncias na cavidade oral, aumentando o *clearance* salivar.

Como já se mencionou, a concentração relativa do HCO_3^- influencia o pH oral, estando diretamente envolvido na manutenção do valor de pH num intervalo de normalidade. Nikiforuk (1985) adicionou que este íon é capaz de se difundir na placa bacteriana e neutralizar os ácidos produzidos pelas bactérias.

Pela etiologia multifatorial da cárie, o conhecimento da sua gênese, desenvolvimento e a eficácia de fatores profiláticos possibilitou concluir que a saliva constitui um dos

principais sistemas de defesa do hospedeiro contra factores de virulência, garantindo o equilíbrio entre a desmineralização e a remineralização dentárias.

No que, às lesões dentárias radioinduzidas diz respeito, estas são dominadas pelos danos causados na fisiologia glandular. De acordo com resultados publicados pela literatura, existem três níveis na dose-resposta: lesão dentária mínima para doses inferiores 30 Gy; um aumento de 2-3x do dano causado, para doses entre 30 e 60 Gy; e um dano 10x maior quando aplicadas doses superiores a 60 Gy. Com doses entre 30 e 60 Gy, o dano foi unicamente relacionado com a disfunção das glândulas salivares e a perda dos seus efeitos protetores. Para doses superiores a 60 Gy, os danos foram reportados como sendo causados pela combinação do dano direto na estrutura dentária com a disfunção glandular (Anneroth *et al.*, 1985; Nikiforuk *et al.*, 1985; Kielbassa *et al.*, 2006; Aguiar *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2009).

Como já referido, a hipofunção glandular, como complicação radioinduzida, tem grande impacto na qualidade de vida dos pacientes, devendo-se, por isso, planear cuidados orais e dentários a longo prazo. Sem cuidados orais adequados, os dentes ficam sujeitos à destruição rápida pela cárie, necessitando de extrações, com risco elevado de necrose do osso de suporte (Jellema *et al.*, 2008; Shiboski *et al.*, 2007; Langendijk *et al.*, 2008).

Muitos estudos têm sugerido que os efeitos crónicos radioinduzidos podem ser a consequência de danos agudos nas glândulas salivares. Sabendo-se que a desmineralização é otimizada a um pH de 5-5,5, na ausência de medidas de controlo e, como consequência da necrose acinar e da atrofia glandular, pode ocorrer xerostomia, disgeusia, dificuldades na mastigação e deglutição, com agravamento de carências nutricionais, predisposição a fendas e ulcerações mucosas, alterações na flora oral (cáries), alterações esofágicas por acidificação do pH salivar, estomatopirose, halitose (o pH é o principal regulador da halitose e a presença de hipossalivação favorece o crescimento de bactérias anaeróbias, responsáveis pela halitose) e aumento do risco de osteorradiationecrose (Cox, 1995; Constine *et al.*, 2008; Langendijk *et al.*, 2008, Tolentino *et al.*, 2011).

O diagnóstico precoce de pacientes que apresentem um baixo pH salivar, associado ou não a hipossalivação e/ou xerostomia radioinduzidos, permite que procedimentos

preventivos sejam corretamente implementados, evitando-se que ocorram danos maiores nos dentes e nos tecidos orais (Vissink *et al.*, 2010).

O efeito tampão, o fluxo e o pH na saliva não estimulada são pouco documentados e, quando documentados, os valores obtidos em medições individuais são pouco confiáveis, pela alta variabilidade de resultados (Kavanagh *et al.*, 1998). Diversos trabalhos publicados referiram variações em função de inúmeras variáveis (ritmo circadiano, estado emocional, idade, dieta, disfunções em geral). Larsen *et al.* (1999), após recolherem semanalmente saliva sem estimulação prévia de 11 estudantes de medicina dentária, concluíram que, apesar das condições da recolha serem padronizadas, a capacidade tampão, o pH salivar, assim como as concentrações de Ca^{2+} e PO_4 apresentaram grande variação individual e os autores sugeriram que a caracterização da saliva não deva ser baseada apenas numa única análise. Neste estudo, apesar das condições de recolha terem sido as mesmas para todos os pacientes, a variabilidade inerente à variável 'pH salivar' é um fator a considerar.

Relativamente à análise da presente amostra, o reduzido número de indivíduos, aliado à subjetividade do teste colorimétrico, podem ter influenciado os resultados finais. Embora o método de recolha colorimétrico seja subjetivo, tentou-se minimizar o impacto dessa subjetividade através da avaliação das escalas de cor por um único observador, com a mesma condição luminosa. O método eletrométrico, quando possível realizar, deve ser adotado, por ter maior acuidade.

V. Conclusão

A RT é uma modalidade terapêutica estabelecida no tratamento de lesões malignas da região de cabeça e pescoço, estando, todavia, associada a toxicidades agudas e tardias marcadas.

Apesar de não serem um alvo terapêutico, as glândulas salivares, devido à sua localização anatômica, recebem, frequentemente, elevadas doses de radiação. Da exposição destas glândulas podem resultar inúmeras sequelas agudas, como por exemplo, a hipossalivação, xerostomia, alteração do pH, alteração da composição salivar e alteração da capacidade tampão, estando estas variáveis interligadas. Esta perda funcional, progressiva e por vezes irreversível, desencadeia complicações orais que podem ser definitivas, como a propensão a infeções orais, odinofagia, disfagia e distúrbios na fala. Estas alterações originam um impacto negativo na qualidade de vida dos pacientes.

Com base nos resultados obtidos pode-se considerar que a RT utilizada no tratamento de tumores malignos da região da cabeça e pescoço parece induzir alterações sobre o pH da saliva total humana, durante as semanas de tratamento. Verificou-se uma tendência para a diminuição do pH ser dependente da dose mediana nas glândulas parótidas. As diferenças encontradas não foram estatisticamente significativas. Estas alterações agudas poderão ser de carácter transitório ou definitivo, facto que deverá ser estudado.

Com base na tendência obtida no presente estudo e pela literatura publicada, reitera-se a necessidade de encontrar fatores dosimétricos, anatómicos ou biológicos, preditivos da redução do fluxo e pH salivares.

Os doentes submetidos a RT à região de cabeça e pescoço devem ser sujeitos a um seguimento rigoroso antes, durante e após os tratamentos, com o intuito de garantir a higiene e saúde oral. A aplicação de protocolos preventivos podem garantir um aumento na qualidade de vida dos pacientes.

Com base nos dados recolhidos propõe-se a realização de investigações futuras que incluam:

1. Quantificar o fluxo salivar durante e após o tratamento;
2. Quantificar o pH meses/anos após o tratamento;
3. Analisar a alteração dimensional das glândulas parótidas durante o tratamento;
4. Investigar a existência de radiosensibilidades variáveis nos diferentes lobos da glândula parótida;
5. Desenvolver investigações no que refere ao tratamento da hipofunção glandular.

VI. Bibliografia

1. Aguiar, G.P. *et al.* (2009). A review of the biological and clinical aspects of radiation caries. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 10, pp. 83–89.
2. AJCC Cancer Staging Manual, 7th Edition. (2010). [Em linha]. Disponível em <<https://cancerstaging.org/Pages/default.aspx>>. [Consultado em 30.11.2014].
3. Anneroth, G., Holm, L.E. e Karlsson, G. (1985). The effect of radiation on teeth. A clinical, histologic and microradiographic study. *International Journal of Oral Surgery*, 14, pp. 269–274.
4. Beetz, I. *et al.* (2012). NTCP models for patient-rated xerostomia and sticky saliva after treatment with intensity modulated radiotherapy for head and neck cancer: The role of dosimetric and clinical factors. *Radiotherapy and Oncology*, 105(1), pp. 101-106.
5. Berk, L.B. *et al.* (2005). Pathophysiology and management of radiation-induced xerostomia. *Journal of Community and Supportive Oncology.*, 3(3), pp. 191-200.
6. Braam, P.M. *et al.* (2005). Long-term parotid gland function after radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 62(3), pp. 659-664.
7. Burlage, F.R. *et al.* (2001). Parotid and submandibular/sublingual salivary flow during high dose radiotherapy. *Radiotherapy and Oncology*. 61(3), pp. 271-4.
8. Bussels, B. *et al.* (2004). Dose-response relationships within the parotid gland after radiotherapy for head and neck cancer. *Radiotherapy and Oncology*, 73, pp. 297-306.
9. Chao, K.S. *et al.* (2001). A prospective study of salivary function sparing in patients with head-and-neck cancers receiving intensity-modulated or three-dimensional radiation therapy: initial results. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 49, pp. 907–916.
10. Constine, L.S. *et al.* (2008). Late Effects of Cancer treatment on Normal Tissues. In: Halperin, E.C., Perez, C.A. e Brady, L.W., (Eds.) *Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology*, 5th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, pp. 320-355.
11. Cox, J.D. *et al.* (1995). Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 31(5), pp. 1341-1346.
12. Cummings, C. (2011). *Cummings Otolaryngology: Head and Neck Surgery*. 5th Edition, Section two, Salivary glands. Chapter eighty-four. Physiology of the Salivary Glands by Ravindhra G. Elluru, pp. 1133-1142.
13. Dawes, C. (1987). Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. *Journal of Dental Research*, 66, pp. 648-653.
14. Deasy, J.O. *et al.* (2010). Radiotherapy Dose–Volume Effects on Salivary Gland Function. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 76(3), pp. S58-S63.
15. Dijkema, T. *et al.* (2008). Large cohort dose-volume response analysis of parotid gland function after radiotherapy: intensity-modulated versus conventional radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 72, pp. 1101–1109.

16. Dijkema, T. *et al.* (2010). Parotid Gland Function After Radiotherapy: The Combined Michigan and Utrecht Experience. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 78(2), pp. 449-53.
17. Dirix, P., Nuyts, S. e Van den Bogaert, W. (2006). Radiation-induced xerostomia in patients with head and neck cancer: a literature review. *Cancer*, 107, pp. 2525-2534.
18. Dowd, F.J. (1999). Saliva and dental caries. *Dental Clinics of North America*, 43(4), pp. 579-97.
19. Eisbruch, A. *et al.* (2001). Xerostomia and its predictors following parotid-sparing irradiation of head-and-neck cancer. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 50, pp. 695-704.
20. Ericsson, Y. (1959). Clinical investigations of the salivary buffering action. *Acta Odontologica Scandinavica*, 17, pp. 131-165.
21. Ericsson, Y. e Hardwick, L. (1978). Individual diagnosis, prognosis and counselling for caries prevention. *Caries Research*, 12(1), pp. 94-102.
22. Ferguson, D.B. (1989). Salivary electrolytes. In Tenovou, J.O. *Human saliva: Chemical Chemistry and Microbiology*. Vol. I, Cap 3. Boca Raton, CRC Press, pp. 75-95.
23. Franzel, W. *et al.* (2006) Effect of tumor therapeutic irradiation on the mechanical properties of teeth tissue. *Zeitschrift für Medizinische Physik.*, 16, pp. 148-154.
24. Franzen, L. *et al.* (1992). Fractionated irradiation and early changes in noradrenaline induced potassium efflux ($^{86}\text{Rb}^+$) in rat parotid gland. *Acta Oncologica*, 31(3), pp. 359-64.
25. Gray, H. (2000). *Anatomy of the Human Body, 20th edition*. Philadelphia, Lea & Febiger.
26. Henson, B.S. *et al.* (1999). Two-year longitudinal study of parotid salivary flow rates in head and neck cancer patients receiving unilateral neck parotid-sparing radiotherapy treatment. *Oral Oncology*, 35, pp. 234-241.
27. Hey, J. *et al.* (2009). Parotid-gland-sparing 3D conformal radiotherapy in patients with bilateral radiotherapy of the head and neck region--results in clinical practice. *Oral Oncol*, 45, pp. e11-17.
28. Hoebbers, F.J. *et al.* (2008). $^{99\text{mTc}}$ Hynic-rh-Annexin V scintigraphy for in vivo imaging of apoptosis in patients with head and neck cancer treated with chemoradiotherapy. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 35, pp. 509-518.
29. Hoppe, R., Phillips, T.L. e Roach, M. (2010). *Leibel and Phillips Textbook of Radiation Oncology, 3rd edition*. Philadelphia, Saunders.
30. Houweling, A.C. *et al.* (2010). A comparison of dose-response models for the parotid gland in a large group of head-and-neck cancer patients. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 76, pp. 1259-1265.
31. International Agency for Research on Cancer. [Em linha]. Disponível em <globocan.iarc.fr/>. [Consultado em 30.11.2014].
32. International Atomic Energy Agency, Radiation Biology: a handbook for teachers and students. (2010). Vienna, Austria. [Em linha]. Disponível em <www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/TCS-42_web.pdf>. [Consultado em 30.11.2014].

33. Jellema, A.P. *et al.* (2007). Impact of Radiation-Induced Xerostomia on Quality of Life After Primary Radiotherapy Among Patients With Head and Neck Cancer. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 69(3), pp. 751-60.
34. Karmioli, M. e Walsh, R.F. (1975). Dental caries after radiotherapy of the oral regions. *The Journal of the American Dental Association*, 91, pp. 838-845.
35. Kavanagh, D. A., O'Mullane, D.M e Smeeton, N. (1998). Variation of salivary flow rate in adolescents. *Archives of Oral Biology*, 43(5), pp. 347-352.
36. Kavanagh, D. A. e Svehla, G. (1998). Variation of salivary calcium, phosphate and buffering capacity in adolescents. *Archives of Oral Biology*, 43(12), pp. 1023-7.
37. Kielbassa, A.M. *et al.* (2006) Radiation-related damage to dentition. *Lancet Oncology*, 7, pp. 326-335.
38. Konings, A.W.T. *et al.* (2006). Secondary radiation damage as the main cause for unexpected volume effects: A histopathologic study of the parotid gland. *International Journal of radiation, oncology, biology, physics*, 64(1), pp. 98-105.
39. Langendijk, J.A. *et al.* (2008). Impact of late treatment-related toxicity on quality of life among patients with head and neck cancer treated with radiotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 26(22), pp. 3770-6.
40. Lee, T.F. *et al.* (2012). Normal tissue complication probability model parameter estimation for xerostomia in head and neck cancer patients based on scintigraphy and quality of life assessments. *BMC Cancer*, 12, p. 567.
41. Leslie, M.D. e Dische, S. (1992). Changes in serum and salivary amylase during radiotherapy for head and neck cancer: a comparison of conventionally fractionated radiotherapy with CHART. *Radiotherapy and Oncology*, 24(1), pp. 27-31.
42. Leslie, M.D. e Dische, S. (1994). The early changes in salivary gland function during and after radiotherapy given for head and neck cancer. *Radiotherapy and Oncology*, 30(1), pp. 26-32.
43. Lett, J. e Altman, K. (1994). *Advances in Radiation Biology*, Volume 12, Relative Radiation Sensitivities of Human Organ Systems. Academic Press, Elsevier. pp 181-223.
44. Li, J. *et al.* (2005). Structural and functional characteristics of irradiation damage to parotid glands in the miniature pig. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 62, pp. 1510-1516.
45. Li, Y. *et al.* (2007). The impact of dose on parotid salivary recovery in head and neck cancer patients treated with radiation therapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 67(3), pp. 660-669.
46. Limesand, K.H., Siad, S. e Anderson, S.M. (2009). Suppression of radiation-induced salivary gland dysfunction by IGF-1. *PLoS One*, 4(3), pp. e4663.
47. Moiseenko, V. *et al.* (2012). Treatment planning constraints to avoid xerostomia in head-and-neck Radiotherapy: an independent test of QUANTEC criteria using a prospectively collected dataset. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 82 (3), pp. 1108-1114.
48. Monteiro, L. *et al.* (2013). Incidence rates and trends of lip, oral and oro-pharyngeal cancers in Portugal. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 42(4), pp.345-351.

49. Murdoch-Kinch, C. *et al.* (2008). Dose-Effect Relationships for the Submandibular Salivary Glands and Implications for Their Sparing by Intensity Modulated Radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 72(2), pp. 373-82.
50. Nagler, R.M. (1998). Short- and long-term functional vs morphometrical salivary effects of irradiation in a rodent model. *Anticancer Research*, 18(1A), pp. 315-320.
51. Nagler, R.M. *et al.* (1998). Long-term salivary effects of single-dose head and neck irradiation in the rat. *Archives of Oral Biology*, 43, pp. 297-303.
52. Nanci, A. (2003). *Ten's Cate's Oral Histology*. 6th Edition, Mosby.
53. Navazesh, M. e Kumar, S.K. (2008). Measuring salivary flow: challenges and opportunities. *The Journal of the American Dental Association*, 139, pp. 35S-40S.
54. Nikiforuk, G. (1985). *Understanding Dental Caries*. V.1, Karger.
55. O'Connell, A.C. *et al.* (1999). Radiation-induced progressive decrease in fluid secretion in rat submandibular glands is related to decreased acinar volume and not impaired calcium signaling. *Radiation Research*, 151, pp. 150-158.
56. Ortholan, C., Benezery, K. e Bensadoun, R.J. (2010). Normal tissue tolerance to external beam radiation therapy: salivary glands. *Cancer/Radiothérapie*, 14, pp. 290-294.
57. Osorio, E. *et al.* (2008). Local Anatomic Changes in Parotid and Submandibular Glands During Radiotherapy for Oropharynx Cancer and Correlation With Dose, Studied in Detail With Nonrigid Registration. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 70(3), pp. 875 – 882.
58. Randall, K. *et al.* (2013) Analysis of factors influencing the development of xerostomia during intensity-modulated radiotherapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology*, 115(6), pp. 772-779.
59. Redman, R.S. (2008). On approaches to the functional restoration of salivary glands damaged by radiation therapy for head and neck cancer, with a review of related aspects of salivary gland morphology and development. *Biotechnic & Histochemistry*, 83(3-4), pp. 103-130.
60. Registo Oncológico Regional do Norte. [Em linha]. Disponível em <<http://www.roreno.com.pt/>>. [Consultado em 30.11.2014].
61. Robar, J.L. *et al.* (2007). Spatial and dosimetric variability of organs at risk in head-and-neck intensity-modulated radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 68, pp. 1121-1130.
62. Roesink, J.M. *et al.* (2001). Quantitative dose-volume response analysis of changes in parotid gland function after radiotherapy in the head-and-neck region. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 51(4), pp. 938-946.
63. Roesink, J.M. *et al.* (2005). A comparison of mean parotid gland dose with measures of parotid gland function after radiotherapy for head-and-neck cancer: implications for future trials. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 63(4), pp. 1006-1009
64. Ross, M.H. e Pawlina, W. (2005). *Histology: a text and atlas*, 5th edition, Williams & Wilkins.
65. Rubin, P. e Casarett, G.W. (1968). Clinical radiation pathology as applied to curative Radiotherapy. *Cancer*, 22(4), pp. 767-78.
66. Santos, L., Medeiros Teixeira, L. (2011). *Oncologia Oral*. Lidel.

67. Shiboski, C.H. *et al.* (2007). Management of salivary hypofunction during and after radiotherapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 103, Suppl:S66.e1-19.
68. Silva, A.R. *et al.* (2009). Patterns of demineralization and dentin reactions in radiation-related caries. *Caries Research*, 43, pp. 43–49.
69. Sreebny, L. e Vissink, A. (2010). *Dry Mouth, The Malevolent Symptom: A Clinical Guide*. Iowa, Wiley-Blackwell.
70. Stephens, L.C. *et al.* (1986). Acute and late radiation injury in rhesus monkey parotid glands. Evidence of interphase cell death. *The American Journal of Pathology*, 124, pp. 469-478.
71. Stephens, L.C. *et al.* (1986a). Target cell and mode of radiation injury in rhesus salivary glands. *Radiotherapy and Oncology*, 7, pp. 165-174.
72. Stephens, L.C. *et al.* (1989). Response of parotid gland organ culture to radiation. *Radiation Research*, 120, pp. 140-153.
73. Stephens, L.C. *et al.* (1991). Radiation apoptosis of serous acinar cells of salivary and lacrimal glands. *Cancer*, 67, pp. 1539-1543.
74. Suntharalingam, N., Podgorsak, E.B. e Hendry, J. H. (2010). *Basic radiobiology*. [Em linha]. Disponível em <www.irsn.fr>. [Consultado em 30.11.2014].
75. Tenovuo, J. (1989). Nonimmunoglobulin defence factors in human saliva. In *Human Saliva: Clinical Chemistry and Microbiology*. Boca Raton, CRC Press, vol. II, pp. 55–91.
76. Tolentino, E., Chinellato, L.E. e Tarzia, O. (2011). Saliva and tongue coating pH before and after use of mouthwashes and relationship with parameters of halitosis. *Journal of Applied Oral Science*, 19(2), pp. 90-94.
77. Verbakel, W. *et al.* (2009). Volumetric intensity-modulated arc therapy vs. Conventional imrt in head-and-neck cancer: a comparative planning and dosimetric study. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 74(1), pp. 252-59
78. Vissink, A. *et al.* (2003). Oral sequelae of head and neck radiotherapy. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 14, pp. 199-212.
79. Vissink, A. *et al.* (2010). Clinical Management of Salivary Gland Hypofunction and Xerostomia in Head-and-Neck Cancer Patients: Successes and Barriers. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 78(4), pp. 983-91.
80. Wescott, W.B. *et al.* (1978). Alterations in whole saliva flow rate induced by fractionated radiotherapy. *American Journal of Roentgenology*, 130, pp. 145-149.