

## Aspectos dos quadros clínico, citológico e da microbiota fúngica da mucosa bucal de pacientes com carcinoma da boca, antes e durante a radioterapia

MARIA CARMELI C. SAMPAIO<sup>1</sup>, ESTHER G. BIRMAN<sup>2</sup>, CLAUDETE R. PAULA<sup>3</sup>

Trabalho realizado na Universidade de São Paulo - SP.

### Resumo

Os autores estudaram clinicamente as lesões e alterações observadas na mucosa bucal de pacientes com carcinoma da boca, independente da neoplasia presente, antes e durante o tratamento radioterápico, por meio da citologia esfoliativa (Papanicolaou e PAS) e esfregaços corados pelo Gram. Comprovou-se um aumento de leveduras durante o tratamento, predominando as formas filamentosas, consideradas mais patogênicas.

Podem-se detectar áreas bem definidas de candidose, quer do tipo atrófica ou pseudomembranosa, além de áreas de radiomucosite, embora a associação de lesões brancas e eritematosas predominassem levando a um mascaramento do quadro clínico presente. Aumento significativo de sintomas desde ardor a xerostomia, entre outros, foi observado durante o tratamento.

**Unitermos:** câncer bucal; leveduras; radiomucosite; citologia esfoliativa; *C. albicans*

### Introdução

Um grande vazio é observado na literatura quando se tenta pesquisar as alterações da mucosa oral de pacientes com câncer bucal antes, durante e mesmo depois da radioterapia. Procurou-se assim correlacionar os vários aspectos clínicos da mucosa bucal de portadores de carcinoma epidermóide da boca com os aspectos citológicos e com a microbiota fúngica, antes e durante a radioterapia, nesta primeira etapa do trabalho.

As radiações ionizantes utilizadas no tratamento dos tumores de cabeça e pescoço modificam o equilíbrio existente na cavidade bucal normal, trazendo para o paciente inúmeros problemas, entre eles, por exemplo, a radiomucosite, além da xerostomia, que possibilitam o aparecimento de várias alterações bucais. Tais modificações condicionam infecções microbianas principalmente fúngicas, ocasionadas por espécies citadas como patogênicas e outras que

também fazem parte da microbiota normal e transitória [3, 5-7, 10, 12, 17-19, 23].

Sabe-se que a maioria dos fungos presentes na cavidade bucal é representada pelo gênero *Candida*, principalmente pela espécie *C. albicans*, embora outras espécies de variada patogenicidade sejam também consideradas, tais como: *C. tropicalis*, que surge em maior número em pacientes imunodeprimidos ou afetados por neoplasias malignas, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*, entre outras [1, 9, 11, 13].

O isolamento de leveduras pertencentes ao gênero *Candida*, por si só, não é evidência de candidose, a não ser em recém-nascidos, devendo-se levar em consideração os achados clínicos presentes [24, 25]. O achado laboratorial, portanto, não é um dado isolado e deve estar sempre associado a meticulosa consideração da sintomatologia, dos aspectos clínicos e dos fatores predisponentes, os quais podem alterar o equilíbrio da microbiota [2, 16].

Deve-se salientar que, nos pacientes com câncer,

<sup>1</sup>Professora Adjunto de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba; <sup>2</sup>Professora Adjunto de Odontologia da USP; <sup>3</sup>Professora Assistente Doutora do Instituto de Ciências Biomédicas da USP - Endereço do autor para correspondência: Faculdade de Odontologia - Deptº de Estomatologia - USP - CEP 05508 - São Paulo - SP

dados como local do desenvolvimento, aspectos clínicos, tamanho da lesão, metástases, idade do paciente, tratamentos anteriores, graduação clínica e histológica são importantes a fim de se poder correlacionar o estado geral do paciente e as complicações locais presentes [3, 4, 8, 17, 22, 23].

Citologicamente, várias modificações têm sido relatadas durante e pós-radioterapia, conhecendo-se pouco as alterações observadas próximas à região que apresenta uma neoplasia em desenvolvimento [4]. Clinicamente, algumas alterações locais e lesões fazem-se presentes, durante e pós-radioterapia, modificadas muitas vezes por associações infecciosas que alteram o quadro clínico, tornando-o confuso. Assim, são poucos os trabalhos relacionando pacientes com câncer bucal submetidos a radioterapia e infecções fúngicas. Chen & Webster [6] observaram positividade de infecções fúngicas em 50% de pacientes durante a radioterapia. Mudanças qualitativas e quantitativas também foram avaliadas por Martin e col. [14], tendo Silverman e col. [22] observado um aumento na positividade das culturas, porém em menor grau, conseguindo com medicação antifúngica o alívio dos sinais e sintomas clínicos da infecção, mas não modificando o número de portadores assintomáticos. É opinião unânime que a radioterapia de per se aumenta a ocorrência de leveduras na cavidade bucal [6, 14, 22].

Os vários aspectos clínicos observados na mucosa bucal de pacientes com câncer (carcinoma epidermóide) da boca, antes e durante a radioterapia, são aqui analisados, bem como discutida sua correlação com os aspectos citológicos e a microbiota fúngica.

## Material e Métodos

Estudaram-se 50 pacientes com carcinoma epidermóide da mucosa bucal diagnosticados histopatologicamente. Após exame locoregional detalhado, dados sobre idade, sexo, raça, hábitos, localização, tamanho e duração da lesão, sintomatologia presente e comprometimento ganglionar foram registrados em fichas apropriadas para estadiar a lesão e obter informações relativas aos pacientes estudados.

O procedimento clínico usual era consubstanciado pela minuciosa observação da mucosa e de qualquer alteração bucal presente para confirmação de um diagnóstico clínico. De todos os pacientes, sistematicamente, colhia-se material para a realização de esfregaços para citologia esfoliativa e Gram, bem como para cultura, antes e durante a radioterapia (Unidade de Cobalto 60<sup>\*</sup> na dosagem de 2.600 a 3.000 cGy).

Áreas-controle da mucosa eram também examinadas, não estando estas próximas à lesão oncológica.

Não foram utilizados, pelas características da mucosa de revestimento e de deficiência de higienização, o palato e a língua.

Para o exame citológico utilizava-se uma espátula metálica (n.º 7), de aço inoxidável, sendo coletadas três amostras de cada caso. Os esfregaços eram fixados em álcool-éter e corados posteriormente pela coloração de Papanicolaou e PAS. O material a ser corado pelo Gram era removido com alça de platina, previamente esterilizada, espalhando-se o material colhido em lâminas de vidro e fixando-se o mesmo pelo calor. Placas contendo ágar Sabouraud-dextrose eram semeadas e incubadas em estufa a 25°C. A coloração de Papanicolaou permite a observação das alterações epiteliais celulares, quantitativas e qualitativas, grau de queratinização, edema, atipia, binucleação, tipo de infiltrado inflamatório, sendo que ao PAS é possível a observação de fungos confirmados pela coloração de Gram.

## Resultados

Os portadores de CE<sup>\*</sup> pertenciam ao sexo masculino, em 92% dos casos. Todos eram brancos e com lesão localizada predominantemente na língua (36%) e no rebordo alveolar (20%).

O comprometimento dos linfonodos regionais foi observado em 82% dos casos.

O tamanho das lesões variou de 2 a 3 cm (52% dos casos) e de 4 a 6 cm (42% dos casos). Estes dados são importantes, pois fornecem o grau de estadiamento clínico da lesão que tinha, predominantemente, aspecto ulcerado. A idade dos pacientes variou de 50 a 70 anos (idade média, 58 anos), sendo que, quanto a hábitos, 60% eram tabagistas crônicos, 20% eram tabagistas e etilistas e o restante não apresentava hábitos dignos de nota.

Antes do tratamento 70% dos pacientes apresentaram uma mucosa clinicamente normal e todos eles (100%) sem sintomatologia. Dos 30% com lesões, 18% apresentaram lesões esbranquiçadas e planas; 10% possuíam lesões eritematosas e 20% lesões mistas. Os diagnósticos clínicos eram variados, embora a maior parte das lesões brancas presentes fosse enquadrada com diagnóstico clínico provável de hiperqueratose, líquen plano e candidose. As lesões eritematosas e mistas foram representadas por candidose atrófica ou eritematosa, além de processos inflamatórios crônicos inespecíficos. Raras lesões proliferativas foram observadas.

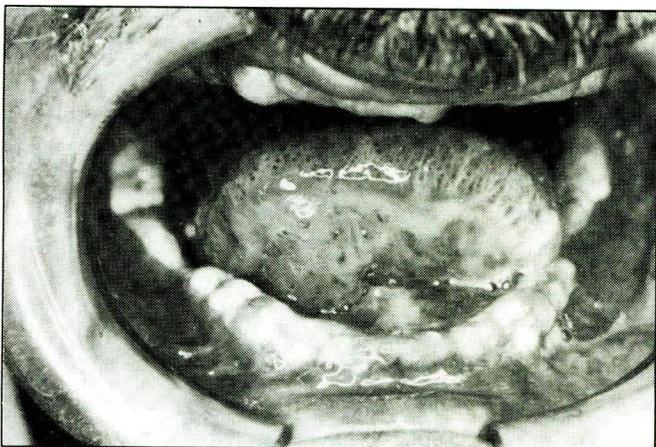
Durante a terapia, 94% dos pacientes apresentavam lesões que podiam ser descritas como: esbranquiçadas em 22% dos casos; eritematosas em 10% e

\*Teratron Jr.

\*CE = Carcinoma epidermóide

mistas em 56%, sendo que somente 6% dos pacientes não apresentaram alterações ou lesões na mucosa bucal.

Comparando-se a presença de lesões, antes e durante o tratamento, obtivemos uma diferença de 64%. Estas eram representadas clinicamente por lesões brancas compatíveis com o diagnóstico de candidose pseudomembranosa e hiperqueratose. Lesões eritematosas isoladas, compatíveis com o diagnóstico de candidose atrófica, bem como áreas eritematosas e ulceradas, diagnosticadas como mucosite, foram observadas em decorrência da ação dos raios X, em suas várias fases (Figura 1).

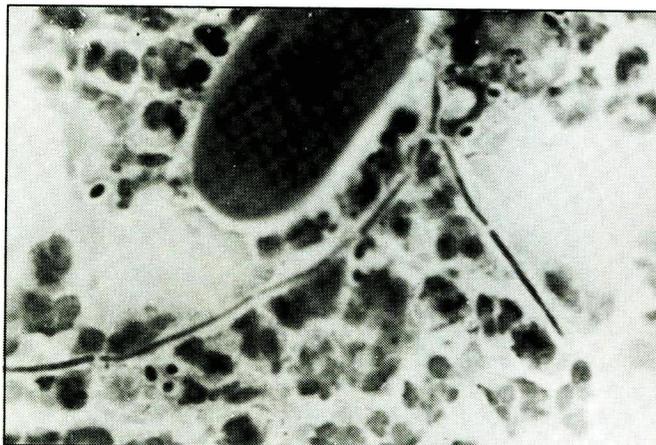


**Figura 1.** Aspectos clínicos da mucosa bucal observados durante a radioterapia, notando-se áreas esbranquiçadas e zonas eritematosas diagnosticadas clinicamente como radiomucosite e infecção fúngica associada.

A sintomatologia negativa antes do tratamento modificou-se, indicando presença de sintomatologia variável durante a terapêutica, na quase totalidade dos pacientes. Foram observadas queixas de ardor (94%); diminuição de saliva, levando a variável grau de xerostomia (68%); perda de paladar (42%); dificuldade de deglutição (4%), além de raros casos de sialorréia.

Os aspectos citológicos antes do tratamento nas áreas-controle não demonstraram alterações dignas de nota, principalmente quanto à maturação celular, sendo os esfregaços classificados nas classes I e II de Papanicolaou. Bactérias em quantidade discreta a moderada, células inflamatórias, maior quantidade de grânulos de querato-hialina e células queratinizadas em maior número foram detectadas em alguns espécimes. Não foram observadas alterações de forma e volume celular, bem como edema ou queratinização normal. A coloração do PAS revelou estruturas fúngicas filamentosas ou leveduriformes em 52% das amostras. Os esfregaços corados pelo Gram confirmaram a presença de fungos em 56% dos casos, assim distribuídos: estruturas filamentosas em 34%;

estruturas filamentosas associadas a leveduras em 14% e leveduras isoladas em 8% dos casos (Figura 2).



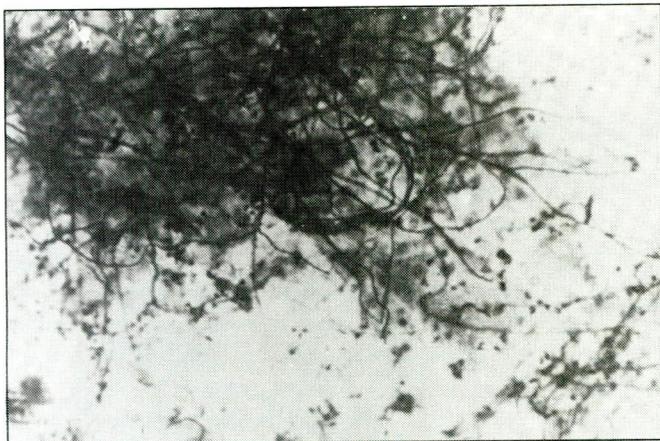
**Figura 2.** Citologia esfoliativa da mucosa bucal antes da radioterapia, revelando presença de raros filamentos e leveduras (coloração de Papanicolaou - Aumento microscópico - 400 x).

Durante o tratamento, a citologia esfoliativa permitiu observar alterações celulares quantitativas e qualitativas mais freqüentes e intensas. Foram evidenciados maior grau de queratinização, vacuolização perinuclear generalizada, associada à presença de núcleos picnóticos. Granulações citoplasmáticas mais intensas e difusas, com abundante número de células inflamatórias, predominando polimorfonucleares neutrófilos, além de associações bacterianas, estavam presentes. Alterações de forma e volume citoplasmáticos das células epiteliais eram observadas, como também células fúngicas, representadas por estruturas filamentosas e leveduriformes. Ao PAS, durante o tratamento, 64% dos espécimes apresentaram positividade para fungos sendo estes, em geral, representados por numerosas estruturas longas e ramificadas (Figura 3). A coloração pelo Gram demonstrou 66% de positividade para fungos e estes estavam sob a forma filamentosas (30%). Esta associa-se a leveduras em 24%, sendo que em 10% dos casos observaram-se somente leveduras isoladas ou mesmo agrupadas.

As culturas foram positivas em 56% dos casos antes da radioterapia e em 72% dos casos durante o tratamento, confirmando com pequenas diferenças os resultados da citologia esfoliativa ao PAS e dos esfregaços corados pelo Gram (Tabela 1).

## Discussão

Os pacientes estudados, frente aos resultados obtidos, apresentaram-se em várias fases de evolução de neoplasia, estando incluídos entre os estágios II e III de Shedd [20].



**Figura 3.** Citologia esfoliativa durante a radioterapia apresentando predomínio de filamentos fúngicos longos e ramificados (coloração de PAS - Aumento microscópico - 160 x).

As alterações citológicas revelaram maior grau de queratinização, salientando-se a ação oxidativa das radiações sobre os grupos sulfidrílicos e sua interação com a maturação celular, além da presença de fungos em maior quantidade. Um aumento das granulações citoplasmáticas poderia ser resultado da fragmentação nuclear ou injúria sofrida pelo citoplasma. A vacuolização citoplasmática mais evidente, durante a radioterapia, resultaria da lise de suas organelas [4, 15]. O aumento do tamanho citoplasmático e, em menor grau, o do núcleo, foram observados de forma constante, com escassos exemplos de binucleação. É provável que a ação das radiações ionizantes tenha incidido indiretamente sobre outras áreas da mucosa bucal, adjacentes ao tumor, ocasionando efeitos qualitativos e quantitativos variados.

Os resultados demonstraram maior quantidade de fungos, principalmente sob a forma de estruturas filamentosas, durante a radioterapia. As alterações imunológicas em presença do câncer parecem não induzir, quer citologicamente ou biologicamente, as mesmas modificações observadas durante a radioterapia. Formas filamentosas em maior número poderiam sugerir uma maior patogenicidade ou agressividade do fungo, sendo este fato ainda discutível, mas que configura clinicamente maior capacidade de produzir infecções e conseqüentemente mais lesões [16].

Quando bem analisados e executados, os exames citológicos e o Gram são muito úteis, sensíveis, não onerosos e eficazes, merecendo portanto confiabilidade. Ressalta-se, no entanto, que as culturas revelaram positividade maior antes e durante o tratamento em relação ao citológico corado pelo PAS aos esfregaços corados pelo Gram (Tabela 1).

Análises quantitativa e qualitativa das leveduras isoladas de mucosa de indivíduos sadios quando comparadas com a de indivíduos com patologias di-

versas, inclusive o câncer, ou em pacientes submetidos a várias terapias, evidenciam aumento significativo da microbiota fúngica, principalmente de espécies do gênero *Candida*. Estas estão presentes como habitantes normais, nos indivíduos considerados *carriers* sem qualquer sintomatologia ou lesão. Questiona-se, portanto, se a lesão oncológica, por si só, induziria modificações locais, ou se as alterações imunológicas, presentes em pacientes com câncer, poderiam colaborar na maior colonização da mucosa por leveduras e em sua transformação patológica. Teria o câncer, na sua forma mais individualizada ou localizada, menor capacidade de induzir alterações imunológicas tão consistentes quanto outras neoplasias malignas em outros locais?

A dificuldade de interpretação das alterações observadas durante a radioterapia também foi verificada por Chen & Webster [6], já que as modificações teciduais provocadas pelas radiações ionizantes são sede fácil de superposição de lesões, principalmente infecciosas, notadamente de origem fúngica. Alterações de queratinização epitelial decorrentes da radioterapia, com aspecto esbranquiçado, também podem ser clinicamente interpretadas como candidose. Assim, nota-se que muitas vezes é difícil diferenciar os aspectos da radiomucosite de uma levedurose, já que o quadro clínico pode estar mascarado e ser rotulado erroneamente. Uma associação dos aspectos parece ser freqüente nesta fase, sendo que as lesões mistas dificultam sobremaneira o diagnóstico clínico que necessita meios laboratoriais auxiliares para sua confirmação. Estes achados não devem ser desprezados do ponto de vista médico, principalmente em pacientes imunodeprimidos. Os sintomas presentes parecem estar relacionados aos efeitos da radiomucosite, porém nos casos positivos para fungos, as queixas observadas eram bem mais intensas, fato que merece um estudo minucioso para sua melhor compreensão.

Nos pacientes com xerostomia, isolam-se com maior freqüência e mais facilmente leveduras, principalmente do gênero *Candida* e espécie *C. albicans*, pois a saliva funciona como uma importante barreira, impedindo o seu desenvolvimento. Pacientes submetidos a radioterapia apresentam redução do fluxo salivar, que facilita, portanto, a proliferação e a invasão da superfície epitelial por leveduras [17, 21, 22].

Os mecanismos que transformam o equilíbrio parasita-hospedeiro condicionam o aparecimento de certas manifestações e infecções que podem se tornar graves e disseminadas, devendo-se melhor elucidá-las quanto aos microrganismos envolvidos. O paciente com câncer merece uma avaliação clínica e laboratorial mais profunda, já que muitos aspectos observados merecem ser mais definidos. Certas infecções, antes raras, começam agora a ganhar ter-

**Tabela 1.** Aspectos clínicos, cultura, coloração de PAS e Gram, da mucosa bucal de pacientes com carcinoma epidermóide de boca, antes e durante a radioterapia

Pacientes	Lesão clínica*		Cultura		PAS		Gram	
	AT	DT	AT	DT	AT	DT	AT	DT
1	V	V/B	+	+	+	+	+	+
2	-	V	-	-	-	-	-	-
3	-	V/B	-	+	-	+	-	+
4	-	V/B	+	+	+	+	-	-
5	-	V/B	+	+	+	+	+	+
6	-	B	+	+	+	+	+	+
7	B	B	-	-	+	-	-	-
8	B	B	+	+	+	+	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	V/B	-	+	+	+	+	+
11	-	V	-	-	-	-	-	-
12	B	V/B	-	+	-	+	-	+
13	-	B	+	+	+	+	+	+
14	-	V/B	-	+	-	+	-	+
15	B	V/B	+	+	+	+	+	+
16	B	V/B	-	+	-	+	+	+
17	B	V/B	-	+	-	+	-	+
18	B	B	+	+	+	+	+	+
19	-	B	-	+	-	-	-	+
20	B	V/B	+	+	+	+	-	+
21	-	V/B	+	+	+	+	+	+
22	-	V/B	+	+	+	+	+	+
23	-	V/B	+	-	-	-	+	-
24	-	V/B	+	+	+	+	+	+
25	B	B	+	+	+	+	+	+
26	-	V/B	-	+	-	+	-	+
27	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	V/B	+	+	-	-	+	+
29	V	V/B	+	+	+	+	+	+
30	-	V/B	+	-	+	+	-	-
31	-	V/B	-	+	-	-	-	-
32	-	V	+	+	+	+	+	+
33	-	V	+	+	+	+	+	+
34	-	V/B	+	-	-	-	+	-
35	-	B	+	+	+	-	+	-
36	-	B	-	+	-	-	-	+
37	V	V/B	-	+	-	+	-	+
38	V	V	+	+	+	+	+	+
39	-	V	-	-	-	-	+	-
40	-	V/B	+	+	+	+	+	+
41	-	V/B	+	+	-	+	+	+
42	-	B	-	-	-	-	-	-
43	-	V	+	-	+	-	+	+
44	-	-	-	-	-	-	-	-
45	-	V/B	-	+	-	+	-	+
46	-	V	-	-	-	-	+	-
47	-	V/B	-	+	-	+	-	+
48	-	V/B	+	+	+	+	+	+
49	-	V/B	+	+	+	+	+	+
50	V	V	+	-	+	-	+	-

\*Material coletado fora da lesão oncológica

AT = antes da radioterapia

DT = durante a radioterapia

V = lesão vermelha

B = lesão branca

V/B = lesão vermelha e branca

reno mais facilmente, necessitando-se, portanto, de mais pesquisas para que se evitem complicações secundárias de importância vital nestes pacientes.

## Agradecimentos

Agradecemos ao Dr. Silvio Boraks, Chefe do Serviço de Odontologia do Instituto Arnaldo Vieira de Carvalho (Santa Casa-SP), que tornou possível a realização deste trabalho.

## Summary

The authors studied clinically lesions of the oral mucosa as well as control areas in patients with oral cancer, before and during radiotherapy, utilizing exfoliative cytology (Papanicolaou and PAS) and smears stained by Gram. A significant increase of yeasts during treatment was observed with predominance of filamentous forms as well as cytologic alterations.

Clinically, well defined areas of candidosis of atrophic or pseudomembranous type were observed beside areas of mucositis. A great majority of the alterations were represented by white and red lesions, difficulting a clinical diagnosis. Symptomatology was negative before treatment and during treatment patients revealed a high number of complaints including burning sensation, xerostomy and loss of taste among other symptoms.

**Key words:** oral cancer; oral cytology; Gram smears; fungi; *C. albicans*

## Referências bibliográficas

- BODEY GP. Candidiasis in cancer patients. Proceedings of a Symposium: Candidiasis. A growing concern. Amer J Med 1984; 77: 9-13.
- BODEY GP. Infection in patients with cancer. In: Holland JF & Frei E. Cancer Medicine. Philadelphia: Lea & Febiger 1982: 1339-72.
- BOGGS DR, WILLIAMS AF, HOWELL JR. A. Thrush in malignant neoplastic disease. Arch Inter Med 1961; 107: 354-60.
- BORAK S, BIRMAN EG. Alterações da mucosa normal em pacientes portadores de carcinoma epidermóide submetidos a tratamento radioterápico. Estudo clínico e citológico. Rev Bras Cirurg Cab Pesc 1984; 8: 71-83.
- BROWN LR, DREIZEN S, HANDLER S, JOHNSTON DA. Effect of radiation-induced xerostomia on human oral microflora. J Dent Res 1975; 54: 740-50.
- CHEN TY, WEBSTER JH. Oral monilia study on patients with head and neck cancer during radiotherapy. Cancer 1974; 34: 246-9.
- BREIZEN S. Oral Candidiasis. Proceedings of a Symposium: Candidiasis. A growing concern. Amer J Med 1984; 77: 28-33.
- FLETCHER GH, MACCOMB WS. Radiation therapy in the management of cancers of the oral cavity and oropharynx. Springfield, Thomas 1962: 3-12.
- HART PD, RUSSEL Jr. EL, REMINGTON JS. The compromised host and infection II - Deep fungal infection. J Infect Dis 1969; 120: 169-91.
- HORNSTEIN OP, GRÄBEL R, SCHIRNER E. Prevalence rates of candidosis in leukoplakias and carcinomas of the oral cavity. Arch Derm Res 1979; 266: 99-102.
- HURLEY R, WINNER H. The pathogenicity of *Candida tropicalis*. J Path Bact 1962; 84: 33-8.
- KING ER, ELZAY RP, DETTMAN PM. Effects of ionizing radiation in the human oral cavity and oropharynx: results of a survey. Radiology 1980; 91: 1001-7.
- KOLNICK JR. Oral candidosis - Report of a case implicating *Candida parapsilosis* as a pathogen. Oral Surg 1980; 50: 411-5.
- MARTIN MV, AL-TIKRITI V, BRAMLEY PA. Yeasts of the mouth and skin during and after irradiation for oral and laryngeal cancer. Amer J Microbiol 1981; 14: 457-67.
- MONTGOMERY PW. A study of exfoliative cytology of normal human oral mucosa. J Dent Res 1951; 30: 1-8.
- RIPPON JW. Medical Mycology. Philadelphia: Saunders 1982: 484-531.
- ROBU B, GRIFFIN IL, GROCKERMAN JP. Oral candidiasis in cancer patients. Sth Med (Bgham, Ala) 1984; 77: 312-4.
- ROSENTHAL LE, BERNARD W. The effects of radiotherapy on oral tissue. J Prosth Dent 1965; 15: 153-6.
- RUBIN RL, DOKU HC. Therapeutic radiology - The modalities and their effects on oral tissues. J Amer Dent Ass 1976; 92: 732-9.
- SHEDD DP. Cancer of the head neck. In: Holland JE & Frei III, E. Cancer medicine. Philadelphia: Lea & Febiger 1982: 1671-85.
- SHEPHERD MG. Candidiasis: and infectious disease of increasing importance. N Z Dent J 1982; 78: 89-93.
- SILVERMAN JR. S, CHIERICI G. Radiation therapy of oral carcinoma. I - Effects on oral tissue and management of the periodontium. J Periodont 1965; 36: 478-84.
- SILVERMAN JR. S, LUANGJARMEKORN L, GREENSPAN D. Occurrence of oral *Candida* in irradiated head and neck cancer patients. J Oral Med 1984; 39: 194-5.
- TASCHDJIAN CL, KOZINN PJ, TONI EF. Laboratory and clinical studies on candidiasis in newborn infants. J Pediat 1957; 50: 425-33.
- TASCHDJIAN CL, KOZINN PJ, TONI EF. Opportunistic yeasts infections, with special reference to candidiasis. Ann NY Acad Sci 1970; 174: 606-22.