

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE ODONTOLOGIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA**

**AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DO COMPORTAMENTO PROLIFERATIVO DA
MUCOSA BUCAL DE PACIENTES COM LEUCOPLASIA POR MEIO DA
CITOLOGIA
- RELATO DE QUATRO CASOS -**

**ADRIANE VIENEL FAGUNDES
131514**

**Laboratório de Patologia Bucal
Faculdade de Odontologia**

15/12/2009

**PANTELIS VARVAKI RADOS
Departamento de Odontologia Conservadora
Patologia Bucal
Professor Associado**

SUMÁRIO

Agradecimentos	3
Resumo	4
Abstract	5
Introdução	6
Antecedentes e Justificativas	7
Objetivo	13
Resultados	14
Discussão	19
Considerações Finais	22
Bibliografia	23
Anexos	26

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus **pais** pelo apoio incondicional, incentivo e torcida em todas as etapas da minha vida.

Ao meu orientador, professor **Pantelis Varvaki Rados** pelo exemplo de profissional competente e dedicado.

Às mestres **Fernanda Visioli, Sabrina Moure e Laura Hildebrand** pela ajuda e empenho para que eu pudesse concluir esse trabalho.

À **Isabel Lauxen** pela realização da parte laboratorial e pela ajuda dada até o último instante do trabalho.

O objetivo do estudo foi avaliar a o comportamento celular proliferativo através da quantificação dos AgNOR em células descamadas da mucosa bucal adjacente e contralateral às lesões de pacientes com leucoplasia. O delineamento do estudo foi observacional, longitudinal, clínico com relação de associação e os achados foram apresentados como casos isolados. Nossos resultados mostram que indivíduos com maior proliferação celular devem ser monitorados com mais frequência e que a suscetibilidade individual tem um papel significativo na carcinogênese.

ABSTRACT

The study was to evaluate the proliferative behavior of cells through the quantification of AgNORs in cells of exfoliated oral mucosa adjacent and contralateral to the lesions of patients with leukoplakia. The study design was observational, longitudinal, clinical relationship of association and the findings were presented as isolated cases. Our results show that individuals with higher cell proliferation should be monitored more frequently and that individual susceptibility plays a significant role in carcinogenesis.

Lesões potencialmente malignas são definidas pela OMS [1] como um tecido morfológicamente alterado, cujo risco de transformação maligna é maior em comparação à sua contraparte normal. A leucoplasia bucal é a lesão potencialmente maligna mais comum e definida como uma placa ou mancha branca que não pode ser caracterizada clínica ou patologicamente como qualquer outra doença.

A leucoplasia é uma lesão de diagnóstico clínico, sendo necessário estudo microscópico para a determinação do distúrbio de maturação epitelial [3-19]. Para estimar o potencial de malignização de uma leucoplasia seria importante avaliar a velocidade de proliferação das células epiteliais por meio da técnica de impregnação pela prata das regiões organizadoras nucleolares ativas (AgNORs) [13].

A leucoplasia é a lesão potencialmente maligna mais comum em boca, têm predileção pelo sexo masculino. Mais encontrada em adultos acima de 40 anos, aumentando com a idade, principalmente em homens [2-3-4].

Ao analisar artigos publicados entre 1986 e 2002, *Petti* [6] selecionou 23 artigos para estimar a prevalência de leucoplasia no mundo. Quando considerou amostras com mais de 1000 indivíduos constatou prevalência de 2,60%. A leucoplasia foi mais comum em homens e não teve diferença significativa entre as faixas etárias. A partir dos dados analisados, o autor estima que a taxa anual de transformação maligna de leucoplasias estaria entre 6,2 e 29,1 por 100.000 casos.

A causa da leucoplasia ainda é desconhecida, existindo relação com alguns fatores, tais como: o tabaco, o álcool, a radiação UV e algumas infecções como, por exemplo, *Treponema pallidum* e *Cândida albicans* [2-3-4-5]. Não há estudos que relacionem o efeito de cessar o hábito de fumar com a redução da possibilidade de transformação maligna [18]

Dietrich et al. [7], ao analisarem os fatores de risco em 16.128 pacientes observaram que o tabagismo, diabetes, idade e fator socioeconômico foram considerados fatores de risco independentes para a leucoplasia bucal. O consumo de álcool, a etnia e escolaridade não exibiram significância isolada. Homens apresentaram maior risco de desenvolver leucoplasia do que mulheres.

Schepman et al. [10] analisaram a transformação maligna de leucoplasias bucais em 166 pacientes durante um período de até 29 meses. Os fatores associados a maior risco de transformação maligna foram: gênero feminino, mulheres não fumantes e lesões clinicamente consideradas não-homogêneas. Os autores estimam que 2,9% das leucoplasias sofrem malignização a cada ano.

Em um estudo de caso-controle, *Hashibe et al.* [8] analisaram a relação entre o nível socioeconômico e lesões potencialmente malignas da cavidade bucal. Dentre as lesões foram avaliadas 927 casos de leucoplasias bucais. Os indivíduos de níveis socioeconômicos mais elevados tiveram menores chances de desenvolver essas lesões potencialmente malignas, sendo o grau de instrução e a renda associados a menores riscos de desenvolver lesões potencialmente malignas. Os autores atribuíram essa associação aos cuidados médicos, modo de vida e fatores psicológicos.

Soares et al. [9] investigaram a prevalência de papilomavírus humano (HPV) em pacientes com leucoplasia. Nesse estudo, 20% dos pacientes portadores de HPV com leucoplasia tiveram resultado histopatológico de displasia severa e nenhum paciente apresentou displasia leve ou carcinoma in situ. Eles sugerem que o HPV está envolvido na transformação maligna, concluindo que o papilomavírus participa do processo de carcinogênese.

Clinicamente, a leucoplasia apresenta variações de tamanho, localização e aspecto clínico. As regiões mais acometidas são a mucosa jugal e a mucosa retrocomissural, seguidas da mucosa alveolar, do palato duro, do palato mole, do assoalho da boca e da gengiva [2-3-4-5]. A transformação maligna da leucoplasia ocorre mais frequentemente na língua e no assoalho bucal, portanto estes são considerados sítios de alto risco [2-4-6]. As leucoplasias são subdivididas em homogêneas e não-homogêneas, conforme sua apresentação clínica. As homogêneas são predominantemente lesões brancas, com superfície lisa e regular e as não-homogêneas podem ser lesões brancas com superfície irregular, exofíticas ou nodulares e lesões branco-avermelhadas, denominadas eritroleucoplasias [4-5].

A leucoplasia, microscopicamente pode ser caracterizada pelo espessamento da camada de ceratina no epitélio superficial e/ou uma camada espinhosa mais espessa. Nem

todas as lesões passam por todos os estágios, mas dependendo do estágio em que se encontra a lesão pode haver ou não displasia [4-5].

Waldron e Shafer [19] após a análise microscópica de 3256 leucoplasias, observaram que 80,1% apresentaram diferentes combinações de hiperortoceratose, hiperparaceratose e acantose, e 16,7% displasia epitelial.

A hiperkeratose é um aumento da espessura da camada de orto ou paracarina (quando há núcleos ou restos nucleares na camada de caratina). A acantose é o espessamento anormal da camada espinhosa do epitélio, caracterizando-se pelo alongamento, embotamento e confluência das papilas epiteliais que resulta em uma união em linha reta com o tecido conjuntivo [5–20].

A displasia epitelial é caracterizada por modificações dos processos de renovação e maturação epitelial, resultando em alterações arquiteturais e citológicas [5- 19-21]. Segundo a OMS [1], as alterações arquiteturais e citológicas estão descritas na tabela abaixo.

Tabela1: Alterações arquiteturais e citológicas resultantes dos processos de renovação e maturação epitelial em displasia epitelial.

ARQUITETURAS	CITOLÓGICAS
Estratificação epitelial irregular	Varição anormal do tamanho nuclear
Perda da polaridade das células da camada basal	Varição anormal da forma nuclear
Aumento do número de figuras de mitoses (algumas atípicas)	Varição anormal do tamanho celular
Presença de mitoses na metade superficial do epitélio	Varição anormal da forma celular
Duplicação da camada basal	Aumento da proporção citoplasma/núcleo
Ceratinização individual ou de grupos de células na camada espinhosa	Aumento do tamanho nuclear
Papilas epiteliais em forma de gota	Figuras mitóticas atípicas
	Aumento do número e tamanho dos nucléolos
	Hipercromatismo

Fonte: Organização Mundial da Saúde, 2005.

Rodrigues et al. [11] analisaram a relação clínico-histopatológica de leucoplasias bucais em 28 pacientes adultos. Clinicamente, a maior ocorrência foi de leucoplasias homogêneas: 78,6% e 21,4% de leucoplasias não homogêneas. As leucoplasias homogêneas apresentaram histologicamente hiperqueratose com ausência de displasia epitelial, displasia leve e displasia moderada. As leucoplasias não-homogêneas obtiveram resultados histológicos de displasia severa e carcinoma espinocelular. A partir dos resultados, os autores concluem que há uma relação entre o aspecto clínico e o quadro histopatológico.

Regiões organizadoras nucleolares (NORs) são segmentos de DNA localizados no braço curto de cromossomos acrocêntricos 13, 14, 15, 21 e 22 e servem de molde para a codificação do RNA ribossômico[12]. AgNOR é a técnica de impregnação pela prata das proteínas ácidas não-histônicas que regulam a transcrição das NORs. Para *Pich et al.* a quantificação de AgNOR é um fator prognóstico importante em diversos tipos de tumores humanos, sendo que a velocidade de proliferação celular mais do que a fração de crescimento em si, afeta a progressão neoplásica. Além disso, a quantificação e distribuição de AgNORs são úteis como complemento ao estudo histopatológico para conhecer o nível de alterações celulares e nucleares e, de certo modo, poderia ser um indicativo do grau de malignidade e orientaria o prognóstico das lesões potencialmente malignas e do câncer de boca [13].

Cançado et al. [14] fizeram uma avaliação do efeito do tabaco em mucosa normal de fumantes e não fumantes com a finalidade de relacionar o hábito de fumar com o aumento de AgNORs. A amostra foi de 120 indivíduos e dois sítios anatômicos foram estudados: assoalho de boca e borda de língua. No grupo de fumantes, a média de AgNOR encontrada foi 1,94 em borda de língua e 2,07 em assoalho de boca. No grupo de não-fumantes essa média foi de 1,79 em borda de língua e 1,84 em assoalho de boca, não havendo diferenças significativas entre os sítios anatômicos dos não-fumantes. Houve diferença significativa quando comparados os sítios anatômicos dos grupos, sendo a maior média encontrada no assoalho de boca de

fumantes e, com isso, os autores sugerem que há uma correlação entre o hábito de fumar e o aumento da proliferação celular.

Cano et al. [15] analisaram o marcador AgNOR em leucoplasia e em carcinoma espinocelular de boca. As médias do número de AgNORs em displasia epitelial leve e displasia epitelial moderada, respectivamente 3,89 e 5,72 foram significativamente menores que no carcinoma espinocelular, que apresentou média de AgNOR 9,15, mas não houve diferença estatística entre os graus de displasia. Os resultados indicam que o AgNOR pode ser utilizado como complemento do estudo histopatológico, pois as variações do seu número e distribuição indicaram alterações celulares em lesão determinada.

Paiva et al. [16] analisaram a quantificação de AgNORs em mucosa normal exposta ao fumo e ao álcool de 60 pacientes do sexo masculino com mais de 30 anos. Pacientes foram divididos em três grupos (não fumantes; fumantes; pacientes fumantes e etilistas) e os sítios anatômicos selecionados para o estudo citopatológico foram: mucosa do lábio inferior, bordo da língua e assoalho bucal. Os resultados mostraram que a borda da língua apresentou menor atividade de proliferação celular quando exposta aos carcinógenos fumo e álcool, sendo 2,83 AgNOR/núcleo em comparação com 3,26 AgNOR/núcleo do lábio e 3,93 AgNOR/núcleo do assoalho bucal. Comparando os grupos de fumantes e dos pacientes que fumam e bebem com o grupo de pacientes não fumantes, nota-se um aumento na média do número de AgNORs por núcleo nos três sítios anatômicos, considerando a média de 1,72 AgNOR/núcleo em borda de língua de não fumantes e 2,5 AgNOR/núcleo de fumantes, 2,64 AgNOR/núcleo em lábio de não fumantes comparado a 3,26 AgNOR/núcleo de fumantes e a média de 2,26 AgNOR/núcleo em assoalho de boca de não fumantes comparado à 3,49 AgNOR/núcleo de fumantes sugerindo que a exposição aos carcinógenos aumentam a proliferação celular.

Em uma perspectiva longitudinal do estudo, *Gedoz et al.* [17] avaliaram a proliferação celular dos mesmos pacientes de *Paiva et al.* após 24 meses. O grupo controle não apresentou

variação significativamente significativa da média de AgNOR por núcleo. O grupo de fumantes apresentou aumento em todos os sítios, sendo que um paciente que cessou o hábito de fumar durante o período foi excluído do grupo e teve sua média avaliada separadamente. O lábio inferior inicialmente apresentou 3,34 AgNOR/núcleo e depois 3,86 AgNOR/núcleo, a borda de língua de 2,83 AgNOR/núcleo aumentou para 3,39 AgNOR/núcleo e o assoalho da boca aumentou de 3,49 AgNOR/núcleo para 3,88 AgNOR/núcleo. A análise das variáveis mostrou que os pacientes expostos aos carcinógenos álcool e fumo mostraram proliferação celular aumentada em todos os sítios, variando de 3,22 AgNOR/núcleo para 4,16 AgNOR/núcleo em lábio inferior, de 2,82 AgNOR/núcleo para 3,52 AgNOR/núcleo em borda de língua e 3,60 AgNOR/núcleo para 3,91 AgNOR/núcleo em assoalho de boca. Um dos pacientes do grupo dos fumantes abandonou o hábito de fumar e diminuiu os valores de todas as variáveis analisadas, o que permite sugerir que a suspensão do hábito de fumar pode reverter alterações citogenéticas. Segundo os autores, as variações observadas poderiam estar associadas à suscetibilidade individual aos carcinógenos e que a técnica de AgNORs pode ser utilizada para monitorar pacientes com risco de desenvolvimento de câncer bucal.

Califano et al.[23] estudaram as implicações do campo de cancerização em lesões de cabeça e pescoço, incluindo lesões pré-invasivas e lesões benignas expostas a carcinógenos usando análise por microssatélite. As alterações genéticas da região adjacente foram as mesmas alterações da própria lesão, sugerindo que a origem celular da lesão e da região adjacente é a mesma. O estudo relata a importância do prognóstico em função das alterações dos tecidos adjacentes para a recidiva ou progressão da lesão.

OBJETIVO

O objetivo do estudo foi avaliar a o comportamento proliferativo celular através da quantificação das AgNOR em células descamadas da mucosa bucal adjacente e contralateral às lesões de pacientes com leucoplasia em uma perspectiva longitudinal.

O delineamento do estudo foi observacional, longitudinal, clínico com relação de associação. Os achados foram apresentados como casos isolados. A primeira avaliação fez parte de outro estudo que avaliou a atividade de proliferação celular em mucosa adjacente a leucoplasias e carcinomas espinocelulares.

Os indivíduos do estudo foram oriundos de Clínicas Odontológicas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e participaram do estudo aqueles indivíduos do sexo masculino com mais de 40 anos e diagnóstico clínico de leucoplasia que fizeram ou não biópsia, conforme sua própria escolha.

Após a concordância em integrar o estudo (CONSENTIMENTO EM ANEXO) foi coletado material para exame citológico da área de lesão e no sítio contralateral a esta. Este material foi coletado utilizando-se uma escova citológica, e o material obtido era colocado em um frasco porta-lâminas contendo álcool etílico 96° logo após a coleta. A biópsia foi realizada com a região adjacente à lesão sob anestesia local na disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O material da biópsia foi fixado em formalina neutra tamponada a 10% processado pela técnica de rotina para inclusão em parafina e corado por hematoxilina e eosina (H/E)

No período de controle pós-operatório de até 12 meses após a biópsia, foi realizado um segundo exame citológico da mucosa bucal na área adjacente à lesão e outro na área contralateral à leucoplasia. Nesse momento, foi preenchido um questionário (EM ANEXO) com hábitos do paciente e com a evolução clínica da lesão.

Os esfregaços citológicos foram submetidos à técnica de impregnação pela pratapara a quantificação das AgNOR. A metodologia de leitura da lâmina foi com a identificação

posicionada à direita do observador, sendo quantificado a média de AgNORs (m AgNOR), a porcentagem de células com mais de três AgNOR (% $p>3$) e a porcentagem de células com mais de cinco AgNOR (% $p>5$) presentes nos núcleos das 50 primeiras células observadas em cada lâmina, com aumento de 1000x.

Dos nove pacientes inicialmente avaliados, dois não foram localizados e um teve problemas de saúde impossibilitando a locomoção para novo controle. Dos seis pacientes que retornaram, três apresentaram lesões em borda de língua, um em mucosa jugal, um em lábio e um em assoalho de boca. Dos seis pacientes que retornaram para a segunda avaliação, dois apresentaram nova lesão em local diferente da lesão inicial e foram encaminhados para a realização de biópsia, mas não foram submetidas à avaliação citopatológica. Um paciente com lesão em mucosa jugal teve nova lesão em assoalho de boca. O outro paciente com a lesão na borda da língua mostrou a nova lesão na mucosa jugal.

Foi feita uma calibragem intra e uma inter observador até a obtenção de um valor de kappa mínimo de 0,7.

O Projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

RESULTADOS

Os seis pacientes que retornaram para o segundo exame foram submetidos à coleta citológica e reavaliados clinicamente. Deste material no segundo momento foram perdidas quatro lâminas que correspondiam às regiões adjacente e contralateral de dois pacientes por apresentarem um número insuficiente de células para serem incluídos no estudo.

Os resultados histopatológicos e citopatológicos são apresentados nas tabelas de 1 a 4 com os dados referentes às, regiões adjacentes à lesão (antes e depois da biópsia) e duas da região contralateral à lesão (uma na primeira avaliação e outra na segunda avaliação). Os hábitos considerados foram chimarrão (C), fumo (F) e álcool (A). Quanto às características dos sujeitos da pesquisa, os mesmos foram identificados por números e na ordem da realização dos exames.

Tabela 2: Dados referentes à primeira avaliação citopatológica da região adjacente à leucoplasia, identificando os pacientes por números, hábitos do paciente, a localização da lesão, a média de AgNOR, o percentual de células com mais de 3 AgNOR e o percentual de células com mais de 5 AgNOR, aspecto clínico e o diagnóstico histopatológico (DHP).

PACIENTE	HÁBITOS*	LOCALIZAÇÃO	mAgNOR	p>3 (%)	p>5 (%)	CLINICAMENTE	DHP
1	C, F, A	Borda de língua	2,54	8	0	Não homogênea	Hiperparaceratose em epitélio escamoso
2	C, F, A	Mucosa Jugal	2,76	4	0	Homogênea	Inflamação crônica com hiperplasia epitelial e ceratose extensa
3	C, F	Assoalho de boca	3,5	24	1	Homogênea	Carcinoma epidermóide
4	F, A	Borda de língua	4,2	33	10	Homogênea	—

*Hábitos: C – chimarrão, F – fumo, A – álcool.

**Fonte: Faculdade de Odontologia, Porto Alegre, 2007.

Tabela 3: Dados referentes à segunda avaliação citopatológica da região adjacente à leucoplasia, identificando os pacientes por números, hábitos do paciente, a localização da lesão, a média de AgNOR, o percentual de células com mais de 3AgNOR e o percentual de células com mais de 5 AgNOR, presença ou ausência de lesão (lesão).

PACIENTE	FATORES DE RISCO	LOCALIZAÇÃO	mAgNOR	p>3 (%)	p>5 (%)	LESÃO
1	-	Borda de língua	4,64	19,5	7	não
2	C, F, A	Mucosa jugal	5,3	16	8,5	sim
3	F	Assoalho de boca	3,842105	11	2	não
4	F, A	Borda de língua	4,24	13	4	sim

*Hábitos: C – chimarrão, F – fumo, A – álcool.

**Fonte: Faculdade de Odontologia, Porto Alegre, 2008.

Tabela 4: Dados referentes à primeira avaliação citopatológica da região contralateral à leucoplasia, identificando os pacientes por números, hábitos do paciente, a localização da lesão, a média de AgNOR, o percentual de células com mais de 3 AgNOR e o percentual de células com mais de 5 AgNOR.

PACIENTE	FATORES DE RISCO	LOCALIZAÇÃO	mAgNOR	p>3 (%)	p>5 (%)
1	C, F, A	Borda de língua	2,4	4	2
2	C, F, A	Mucosa Jugal	2,8	17	0
3	C, F	Assoalho de boca	3,94	30	4
4	F, A	Borda de língua	3,36	15	7

*Hábitos: C – chimarrão, F – fumo, A – álcool.

**Fonte: Faculdade de Odontologia, Porto Alegre, 2007.

Tabela 5: Dados referentes à segunda avaliação citopatológica da região contralateral à leucoplasia identificando os pacientes por números, hábitos do paciente, a localização da lesão, a média de AgNOR, o percentual de células com mais de 3AgNOR e o percentual de células com mais de 5AgNOR.

PACIENTE	FATORES DE RISCO*	LOCALIZAÇÃO	mAgNOR	p>3 (%)	p>5 (%)
1	-	Borda de língua	4,74	18,5	8,5
2	C, F, A	Mucosa Jugal	4,54	18	5,5
3	F	Assoalho de boca	3,416667	7,5	2
4	F, A	Borda de língua	3,9	16	2

*Hábitos: C – chimarrão, F – fumo, A – álcool.

**Fonte: Faculdade de Odontologia, Porto Alegre, 2008.

Considerando a mudança de exposição aos quatro fatores de risco para leucoplasia listados neste estudo: fumo, álcool, chimarrão e uso de prótese removível. Observamos que um paciente abandonou fumo, álcool e chimarrão. Um paciente não fumava e não bebia e os outros quatro pacientes que fumavam, não abandonaram o hábito durante o período das avaliações. Os três pacientes que consumiam bebidas alcoólicas, também não abandonaram o hábito. Dois pacientes usuários de prótese não relataram a substituição dos aparelhos durante o período. Dois pacientes não relataram ter problemas de saúde, dois eram hipertensos, um apresentava colesterol alto e um deles retardo mental leve.

Um dos pacientes com leucoplasia em borda de língua, durante a primeira avaliação, apresentava carcinoma espinocelular em região contralateral. Um paciente com leucoplasia em assoalho de boca, após o estudo desenvolveu carcinoma em região de orofaringe.

Os pacientes avaliados no presente estudo apresentaram leucoplasias em borda de língua, lábio inferior, palato, mucosa alveolar, mucosa jugal e assoalho de boca, o que coincide com os locais de aparecimento de leucoplasias mencionado por outros autores [2-3-4-5]. Dois pacientes apresentaram novas lesões com aspecto idêntico às anteriores no segundo exame clínico, considerando o aparecimento de lesões brancas em outras áreas da mucosa bucal não é possível descartar a possibilidade de líquen plano [2-3-4].

Os pacientes 1 e 2 apresentaram médias de AgNOR muito próximas na primeira avaliação na região adjacente e na região contralateral. No segundo momento esses dois pacientes tiveram um aumento da média de AgNOR. Os pacientes 3 e 4 apresentaram médias de AgNOR superiores aos pacientes 1 e 2 na primeira avaliação nas regiões adjacente e contralateral e essas médias se mantiveram muito próximas às da primeira avaliação na segunda avaliação. Isto nos permite considerar a suscetibilidade individual do padrão de proliferação celular dos pacientes.

Os fatores de risco como fumo e álcool estão associados à leucoplasia, sendo o fumo considerado o fator predisponente mais comum para as lesões potencialmente malignas da mucosa bucal [21]. Dos pacientes inicialmente avaliados por nosso estudo, somente um não estava exposto ao fumo. Em relação ao álcool, não foi se avaliou seu efeito independente em relação à leucoplasia, uma vez que todos os pacientes que relataram beber também eram fumantes. O paciente que apresentou leucoplasia em lábio inferior trabalhava sob o sol (pedreiro), sem barreiras químicas ou físicas de proteção o que podemos associar à radiação UV [3-4]. Nenhum dos pacientes apresentava lesão clinicamente compatível com aquelas provocadas pela infecção com o papilomavírus humano (HPV) não sendo possível relacioná-lo com o grau de proliferação celular, a partir deste critério.

A técnica empregada de quantificação de AgNOR tem sido utilizada como marcador de proliferação celular em lesões bucais, [12] e um fator prognóstico importante em diversos tipos de tumores [13]. De acordo com Pich *et al.*[13], a velocidade de proliferação celular mais do que a fração de crescimento por si, afeta a progressão neoplásica, porém, o significado do aumento de AgNOR pode ser o resultado da divisão celular, apresentando variações no metabolismo ou da atividade transcricional das células [12], o que podemos associar aos nossos achados que apresentaram um aumento significativo de nAgNOR, percentual de $p>3$ e $p>5$ nas regiões adjacentes e contralaterais de dois pacientes, que devem ser avaliados mais frequentemente.

Coleman et al. [20] em seu estudo mostrou variações de número, forma e volume de AgNORs de mucosa normal e de células malignas. Este estudo avaliou o número de células em região adjacente e contralateral às lesões leucoplásicas através de citopatologia, mostrando um aumento do número de células em todas os parâmetros.

A média de AgNOR encontrada em nosso estudo aumentou na região adjacente e na região contralateral, porém este aumento foi superior na região adjacente. Isto sugere que há maior proliferação celular na região que apresentou a lesão em comparação à região contralateral. *Xie et al.* [21] em seu estudo, encontra uma correlação entre a média de AgNOR e o prognóstico da lesão, isto faz concluir que a região adjacente à lesão é mais suscetível a apresentar nova leucoplasia que outra região na mucosa bucal.

Cançado et al. [14] observaram que pacientes que fumavam tinham média de AgNOR mais alta que os que não fumavam. De acordo com esses resultados, pôde-se observar que o paciente que não fuma mostrou uma média de AgNOR menor que os outros na região adjacente à lesão, o que poderia nos indicar que em pacientes fumantes há uma maior proliferação de células da mucosa. Um dos nossos pacientes abandonou o fumo, o álcool e parou de tomar chimarrão durante o estudo, porém apresentou aumento de AgNOR em todas

as variáveis analisadas, o que se contrapõe aos achados de *Gedoz et al* [17]. Esse paciente teve carcinoma espinocelular na região contralateral à leucoplasia, o que pode ser um indicativo de um persistente aumento da proliferação celular na mucosa desse paciente e confere o padrão individual de monitoramento com AgNOR e corrobora com a teoria do campo de cancerização [23].

Lodi et al.[23] em uma revisão sistemática sobre tratamentos de leucoplasia oral, selecionaram 9 estudos, dentre os quais compararam vitamina A e retinóides, betacaroteno, bleomicina, chá misto e ketorlac com placebo ou nenhum tratamento. Os autores concluem que os tratamentos propostos podem ser efetivos para a resolução da lesão, mas as recidivas e os efeitos adversos são frequentes. Não existem provas de um tratamento efetivo para prevenir a transformação maligna de uma leucoplasia [22]. Em nosso estudo, não foi realizado nenhum tipo de tratamento, mas indicamos que os pacientes expostos aos fatores de risco devem ser regularmente examinados por cirurgiões-dentistas, pois é um exame facilmente realizado e de baixo custo [18], podendo assim diagnosticar precocemente ou otimizar o prognóstico de um carcinoma espinocelular.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leucoplasia como uma lesão potencialmente maligna deve ser melhor estudada e o controle longitudinal de pacientes com número crescente de AgNOR entre as avliações deve ser mais rígido.

A suscetibilidade individual é um fator que não está bem esclarecido em relação às lesões leucoplásicas.

São necessários mais acompanhamentos longitudinais e estudos de casos controle de pacientes com leucoplasia expostos ou não expostos aos fatores de risco avaliando as regiões adjacentes e contralaterais a estas lesões.

1. WHO Collaborating Centre for Oral Precancerous Lesons. Definition of leucoplasia and related lesions.
2. Laskaris, George. Atlas colorido de doenças da boca. 3. Ed, 454 p Porto Alegre: Artmed, 2004.
3. Neville BW, Damm DD, Allen CM et al. Patologia Oral e Maxilofacial. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.
4. Shafer, William G., Hine, Maynard K., Levy, Barnet M., Tomich, Charles E. Tratado de patologia bucal. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987.
5. Wall, Isaac van der. Kwast, Willem Anton Maurits van der. Oral pathology. Chicago: Quintessence, 1988.
6. Petti S. Pooled estimate of world leukoplakia prevalence a systematic review. Oral Oncol. 2003;39(8):770-80.
7. Dietrich T, Reichart PA, Scheifele C. Clinical risk factors of oral leukoplakia in a representative sample of the US population. Oral Oncol 2004; 40(2):158-63.
8. Hashibe M, Jacob BJ, Thomas G et al. Socioeconomic status, lifestyle factors and oral premalignant lesions. Oral Oncol 2003; 39(7):664-71.
9. Soares, Christiane Pienna et al. Presença do papilomavírus humano em lesões malignas de mucosa oral. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba, v. 35, n. 5, 2002.
10. Schepman KP, van der Meij EH, Smeele LE et al. Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from The Netherlands. Oral Oncol 1998; 34(4):270-5.

11. Rodrigues, T.L.C.; Costa, L.J. da; Sampaio, M.C.C.; Rodrigues, F.G.; Costa, A. de L. L. Leucoplasias bucais: relação clínico-histopatológica. *Pesqui Odontol Bras*, v.14, n.4, p.357-361, out./dez.2000.
12. Derenzini, M. The AgNORs. *Micron* 31 (2000) 117–120
13. Pich A, Chiusa L, Margaria E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology. *Micron*. 2000 Apr;31(2):133-41. Review.
14. Cançado RP, Yurgel LS, Filho MS. Evaluation of the nucleolar organizer region associated proteins in exfoliative cytology of normal buccal mucosa. Effect of smoking. *Oral Oncol*. 2001 Jul;37(5):446-54.
15. Cano LC, Álvarez GJ, Valencia WA, Ramírez JA Prada CA. Análisis del marcador AgNOR en leucoplasia carcinoma escamolecular oral. *Medicina Oral* 2002; 7: 17-25.
16. Paiva, Ricardo Losekann. Quantificação das AgNORs em células da mucosa bucal normal exposta ao fumo e álcool : um estudo citopatológico. 2003. 88 f. : il. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Patologia Bucal, Porto Alegre, BR-RS, 2003. Ori.: Rados, Pantelis Varvaki.
17. Gedoz, Luhana. Avaliação longitudinal da atividade proliferativa em mucosa bucal humana clinicamente saudável exposta ao fumo e ao álcool por meio da técnica de AgNOR. 2005. 51 f. : il. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2005. Ori.: Rados, Pantelis Varvaki.
18. Nagao T, Warnakulasuriya S. Annual screening for oral cancer detection. *Cancer Detect Prev*. 2003;27(5):333-7.
19. Waldron CA, Shafer WG. Leukoplakia revisited. A clinicopathologic study of 3256 oral leukoplakias. *Cancer* 1975; 36: 1386–92.

20. Coleman, H.G. *et al.* Nucleolar organizer regions (AgNOR) in odontogenic cysts and ameloblastomas. *J. Oral Pathol. Med.*, 25: 436-40, 1996.
20. Xie, X. *et al.* Diagnostic and prognostic value of nucleolar organizer regions in normal epithelium, dysplasia, and squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer*, v. 79, no. 11, p. 2200-2208. 1997.
21. Speight, P.M. *et al.* Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. *J Oral Pathol Med* (2008) 37: 1–10, 2008.
22. Lodi G, Sardella A, Bez C, Demarosi F, Carrassi A. Intervenciones para el tratamiento de la leucoplasia oral (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008 Número 2.
23. Califano J, van der Riet P, Westra W, Nawroz H, Clayman G, Piantadosi S, Corio R, Lee D, Greenberg B, Koch W, Sidransk D. Genetic Progression Model for Head and Neck Cancer: Implications for Field Cancerization. *Cancer Research* 56, 2488-2492. June 1, 1996.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
CONSENTIMENTO INFORMADO

I- Justificativa e objetos da pesquisa: avaliar, através da análise das alterações cromossomais e de Proliferação celular, a ação do álcool e do fumo sobre as células da mucosa bucal normal obtidas por raspagem.

II- Procedimentos que serão realizados e seus propósitos: serão realizados esfregaços mediante a utilização da escova citopatológica na mucosa bucal clinicamente normal de indivíduos com câncer ou leucoplasia ou expostos ao álcool e ao fumo. Além disso, serão realizadas biópsias das lesões compatíveis com câncer bucal e da mucosa clinicamente normal todos os casos que mostrarem variação do padrão normal, serão submetidas a novas avaliações clínicas e/ou laboratoriais.

III- Pelo presente consentimento informado, declaro que fui esclarecido de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento e coerção, dos objetivos, da justificativa e dos procedimentos que serei submetido pelo presente projeto de pesquisa.

Fui igualmente informado:

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;
- da segurança de que não serei identificado e, que se manterá, o caráter confidencial das informações relacionadas com a minha privacidade;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;
- do compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo;
- da disponibilidade de tratamento médico e de indenização, conforme estabelece a legislação, caso existam danos a minha saúde, diretamente causados por esta pesquisa.

O pesquisador responsável por este projeto de pesquisa é Dr. Pantelis Varvaki Rados (fone: 3308.5023 ou 3308.5011).

Nome e Assinatura do voluntário

Data: _____ Telefone: _____

Observação: o presente documento, baseado no item IV das Diretrizes e Normas Regulamentares para Pesquisa em Saúde do Conselho Nacional de Saúde (resolução a96/96), será assinado em duas vias, de igual teor, ficando uma em poder do paciente e a outra do pesquisador responsável.

CONTROLE DE EXAME CITOPATOLÓGICO

Dados do Paciente

Registro _____ / _____ Local da lesão _____
 Nome _____
 Data de nascimento ___/___/___ Idade _____ Sexo _____ Pele _____
 Profissão _____
 Endereço _____
 Cidade _____ CEP _____
 Telefone() _____ () _____ () _____
 Doenças sistêmicas _____
 Medicamentos _____

Hábitos

Fuma ()Sim ()Não Há quanto tempo _____ Quantidade _____
 Parou de fumar ()Sim ()Não Há quanto tempo _____ Quantidade _____
 Bebe ()Sim ()Não Há quanto tempo _____ Quantidade _____
 Parou de beber ()Sim ()Não Há quanto tempo _____ Quantidade _____
 Toma chimarrão ()Sim ()Não Há quanto tempo _____ Quantidade _____
 Parou de tomar chimarrão ()Sim ()Não Há quanto tempo _____ Quantidade _____
 Usa prótese ()Sim ()Não Há quanto tempo _____ Quantidade _____
 Trocou a prótese ()Sim ()Não Há quanto tempo _____ Quantidade _____

Evolução

Quanto tempo após a biópsia _____
 Resultado da biópsia _____

Como está a lesão clinicamente _____
 Regrediu ()Sim ()Não Controle igual da mucosa ()Sim ()Não

Controle anterior à biópsia

nAgNOR _____ pAgNOR _____ p>3 _____ p>5 _____

Controle após à biópsia

nAgNOR _____ pAgNOR _____ p>3 _____ p>5 _____