



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LAVRAS**

**O USO DA CITOLOGIA ESFOLIATIVA NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE ALTERAÇÕES  
CELULARES INDUZIDAS PELO USO DO FUMO**

**LETÍCIA MARIA CORRÊA**

**LAVRAS – MG**

**2019**

**LETÍCIA MARIA CORRÊA**

**O USO DA CITOLOGIA ESFOLIATIVA NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE  
ALTERAÇÕES CELULARES INDUZIDAS PELO USO DO FUMO**

Monografia apresentada ao Centro  
Universitário de Lavras como parte das  
exigências do curso de graduação em  
Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Linaena Méricy  
da Silva

Co-orientadora: Profa. Dra. Natália  
Galvão Garcia

**LAVRAS – MG**

**2019**

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Processamento Técnico da  
Biblioteca Central do Unilavras

C824u      Corrêa, Leticia Maria.  
O uso da citologia esfoliativa no diagnóstico precoce de  
alterações celulares induzidas pelo uso do fumo / Leticia  
Maria Corrêa; orientação de Natália Galvão Garcia –  
Lavras: Unilavras, 2019.  
32 f.: il.

Monografia apresentada ao Unilavras como parte das  
exigências do curso de graduação em Odontologia.

1. Câncer bucal. 2. Fumante. 3. Papanicolau.  
I. Garcia, Natália Galvão da (Orient.). II. Título.

**LETÍCIA MARIA CORRÊA**

**O USO DA CITOLOGIA ESFOLIATIVA NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE  
ALTERAÇÕES CELULARES INDUZIDAS PELO USO DO FUMO**

Monografia apresentada ao Centro  
Universitário de Lavras como parte das  
exigências do curso de graduação em  
Odontologia.

APROVADA EM 18 DE SETEMBRO DE 2019:

---

**CO-ORIENTADORA**

Profa. Dra. Natália Galvão Garcia – Unilavras

---

**MEMBRO DA BANCA**

Profa. Dra. Renata de Carvalho Foureaux – Unilavras

**LAVRAS – MG**

**2019**

## **AGRADECIMENTOS**

Dedico esse trabalho aos meus pais e família por todo incentivo durante os anos de faculdade. Ao Alan, pela ajuda e paciência na realização deste trabalho. A minha orientadora Linaena Méricy por todo apoio ao longo da elaboração do meu projeto final. Também gostaria de deixar um agradecimento aos meus tios e professores Cassio Vicente Pereira e Luciano Jose Pereira por ser apoio e incentivar a percorrer o caminho da pesquisa científica.

“É a proporção entre nossas representações e a experiência,  
que assegura a racionalidade dos nossos pensamentos.”

Olavo de Carvalho

## RESUMO

O câncer bucal é causado principalmente pelo uso constante de tabaco (fumo) e o álcool atua como fator secundário e sinérgico. O meio mais eficiente para reduzir a mortalidade e morbidade da doença é a realização do diagnóstico precoce das alterações celulares. Para isso, várias técnicas podem ser usadas, dentre elas a citologia esfoliativa associada à coloração de Papanicolau. Essa técnica deve ser implementada na odontologia como exame de rotina durante o exame clínico, podendo reduzir assim a incidência do câncer de boca na população em geral. O objetivo neste estudo foi implementar a técnica da citologia esfoliativa na detecção precoce de alterações celulares induzidas pelo uso contínuo do fumo. Foram selecionados aleatoriamente 61 pacientes atendidos na clínica de Odontologia do Centro Universitário de Lavras (Unilavras) que foram separados em dois grupos experimentais, grupo 01: pacientes do sexo masculino, sem nenhuma lesão bucal que nunca apresentou história de uso de fumo/tabaco; grupo 02: pacientes do sexo masculino sem nenhuma lesão bucal que tem história de uso regular de tabaco/fumo. O material coletado foi corado pela técnica de Papanicolaou e parâmetros celulares e nucleares foram utilizados para estabelecer a presença ou ausência de alterações celulares. Foi realizada a citologia esfoliativa da mucosa jugal de 40 pacientes, sendo 9 fumantes e 31 não fumantes. Nesse grupo de pacientes a média de idade dos pacientes fumantes foi 53,4 anos e os pacientes não fumantes apresentaram média de idade de 48,1 anos. Também foi realizada a citologia esfoliativa da borda lateral da língua de 21 pacientes, sendo 7 fumantes e 14 não fumantes. Nesse grupo a média de idade dos pacientes fumantes foi de 48,3 e dos pacientes não fumantes foi de 44,9. Na avaliação citológica, foi observado que a maioria dos pacientes fumantes apresentaram a classificação II de Papanicolau em ambas as localizações. Foi observado forte correlação entre a quantidade de fumo usado pelo paciente e os achados da citologia esfoliativa.

**Palavras-Chaves:** Câncer bucal; Fumante; Papanicolau.

## ABSTRACT

Oral cancer is mainly caused by the constant use of tobacco (tobacco) whereas alcohol consumption acts as a secondary and synergistic factor. The most efficient way to reduce its mortality and morbidity is the early diagnosis of cell alterations. Several techniques can be used to identify initial alterations, including exfoliative cytology associated with Papanicolau. This technique should be implemented in dentistry as a routine test during the clinical examination, thus reducing the incidence of oral cancer in the general population. The aim of this study was to implement the exfoliative cytology technique in the early detection of cell alterations induced by continuous smoking. We randomly selected 61 patients treated at the Dental Clinic at the Lavras University Center (Unilavras). These patients were separated into two experimental groups: group 01: male patients with no oral lesions who had never smoked /tobacco use; and group 02: male patients with no oral lesions who had a history of regular smoking history/tobacco use. The collected material was stained by the Papanicolaou technique and cellular and nuclear parameters were used to establish the presence or absence of cellular alterations. Exfoliative cytology of the jugal mucosa was performed in 40 patients, 9 smokers and 31 non-smokers. In this group of patients the average age of smokers was 53.4 years and non-smokers had a mean age of 48.1 years. Exfoliative cytology of the lateral border of the tongue was also performed in 21 patients, 7 smokers and 14 non-smokers. In this group the average age of smokers was 48.3 and of non-smokers 44.9. In the cytological evaluation, it was observed that most smokers had Papanicolau classification II in both locations. A strong correlation was observed between the amount of smoke used by the patient and the findings of exfoliative cytology.

**Keywords:** Oral squamous cell; Smokers; Papanicolau.

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Classificação citológica de Papanicolau para pacientes com amostras coletadas na mucosa jugal. ....	25
Tabela 2 - Classificação citológica de Papanicolau para pacientes com amostras coletadas na borda lateral de língua.....	26

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Média de idade ( $\pm$ SD) dos pacientes com amostras coletadas da mucosa jugal. .....	23
Gráfico 2 - Pacientes portadores ou não de doenças sistêmicas com amostras coletadas na mucosa jugal. ....	23
Gráfico 3 - Média ( $\pm$ SD) de idade dos paciente com amostras coletadas na borda lateral da língua. ....	24
Gráfico 4 - Pacientes com ou sem doença sistêmica com amostras coletadas na borda lateral da língua.....	24
Gráfico 5 - Média ( $\pm$ SD) de maços de cigarro que os pacientes fumavam, considerando o local da coleta das amostras.....	25

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	14
2.1	Câncer bucal.....	14
2.2	Citologia esfoliativa .....	15
3	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	18
3.1	Delineamento do estudo.....	18
3.1.1	Critérios de Inclusão e Exclusão .....	18
3.1.2	Riscos e Benefícios.....	19
3.1.3	Coleta de dados e amostras.....	19
3.1.4	Coloração e Análise Citológica .....	20
3.1.5	Confidencialidade e Sigilo dos dados.....	22
4	<b>RESULTADOS</b> .....	23
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	27
6	<b>CONCLUSÕES</b> .....	29
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	30

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer bucal, uma doença relacionada ao uso do tabaco, representa 2 – 4% das neoplasias malignas na população ocidental e é responsável por quase 40% de todos os cânceres na Índia (MEHROTRA et al., 2006). Estimam-se, para o Brasil, no ano de 2014, 11.280 casos novos de câncer da cavidade oral em homens e 4.010 em mulheres. Tais valores correspondem a um risco estimado de 11, 54 casos novos a cada 100 mil homens e 3, 92 a cada 100 mil mulheres. O câncer de cavidade oral é considerado um problema de saúde pública em todo o mundo. A última estimativa mundial apontou que ocorreriam cerca de 300 mil casos novos e 145 mil óbitos, para o ano de 2012, por câncer de boca e lábio

O carcinoma epidermóide de boca é o tipo mais comum de câncer bucal, que geralmente se desenvolve a partir de lesões pré-cancerizáveis, tais como a leucoplasia e a eritroplasia. Histopatologicamente segue um padrão de desenvolvimento: hiperplasia, atipia epitelial e o carcinoma de células escamosas, propriamente dito (CARRERAS-TORRAS; GAY-ESCODA, 2014).

O carcinoma epidermóide (ou carcinoma de células escamosas) tem como principais fatores etiopatogênicos: o fumo e o álcool. Mundialmente, observa-se que a sua frequência na população está correlacionada ao uso principalmente do fumo. Na cavidade bucal, a lesão pode aparecer no palato, borda lateral de língua, bochecha e rebordo alveolar, e clinicamente seu aspecto pode variar desde uma lesão nodular até uma lesão infiltrativa e ulcerada (SOUSA et al., 2014).

Atualmente, apesar dos avanços no campo do tratamento, tais como a radioterapia e a quimioterapia, a sobrevida dos pacientes com a neoplasia permaneceu inalterada. É de cinco anos, aproximadamente, para 80% dos pacientes com lesões incipientes e localizadas e para 19% dos pacientes com metástases à distância. Assim, é evidente que o rastreamento precoce das alterações celulares precursoras do câncer e o diagnóstico dessas lesões é de extrema relevância. Pensando nisso, a citologia esfoliativa pode ser usada tanto para o rastreamento quanto para o diagnóstico precoce do câncer bucal (KAZANOWSKA; HALÓN; RADWAN-OCZKO, 2014).

A citologia esfoliativa é uma técnica de diagnóstico com base em uma avaliação microscópica de células epiteliais, após um procedimento de fixação e coloração. Existem dois métodos em uso: o método indireto e o método direto no qual as células são coletadas após a esfoliação da superfície da mucosa. As células coletadas são colocadas em um fluido conservante e coradas utilizando-se o método de Papanicolaou. A coloração de Papanicolaou

é uma técnica histológica multicromática desenvolvida por George Papanicolaou, de fácil execução e barata que utiliza três corantes: a hematoxilina, o EA e o Orange (KAZANOWSKA; HALOŃ; RADWAN-OCZKO, 2014).

Essa técnica como ferramenta de diagnóstica é mais popular em ginecologia e seu uso surgiu na década de 1940 e desde então melhorou-se a forma de diagnóstico precoce de câncer uterino. Infelizmente, a citologia esfoliativa é pouca usada no rastreamento do câncer bucal, justificando assim trabalhos que provem a eficácia desse método. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a mucosa bucal de pacientes fumantes e não fumantes através da citologia esfoliativa e buscar parâmetros citológicos para a detecção precoce das alterações celulares induzidas pelo fumo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Câncer bucal

O câncer é uma doença que apresenta alta mortalidade e morbidade. Foi estimado que em 2020 haverá 15 milhões de novos casos e 10 milhões de mortes no mundo (SAMAN, 2012). Os principais fatores etiopatogênicos envolvidos no aparecimento da doença são: uso de cigarro, consumo de álcool, dietas não saudáveis, vida sedentárias e infecções virais.

O câncer bucal representa 2% de todos os cânceres e aproximadamente 90% dos cânceres de boca são do tipo carcinoma de células escamosas. O carcinoma de células escamosas é o oitavo tipo de câncer mais prevalente no sexo masculino e o quinto mais prevalente no sexo feminino (TAGHAVI; YAZDI, 2015). Os fatores de riscos mais bem conhecidos para essa doença são o uso excessivo de álcool e fumo. Alguns outros fatores podem também influenciar a incidência dessa lesão tais como: a idade; o sexo; a ocupação e a distribuição geográfica da população. (MAHMOUDI et al., 2015). Alguns estudos demonstram que o cigarro (tabaco) e o álcool são fatores etiopatogênicos que atuam sinergicamente no aparecimento da doença (SAMAN, 2012; MAHMOUDI et al., 2015).

A taxa de sobrevida de 5 anos dos pacientes com carcinoma de células escamosas não evoluiu nas últimas três décadas e permaneceu em torno de 50%. No entanto, quando a lesão é diagnosticada no estágio I a taxa de sobrevida sobe para 80%, aproximadamente. Quando o diagnóstico é feito no estágio III e IV a taxa de sobrevida cai para em torno de 30%. Os principais locais de acometimento do carcinoma de células escamosas são: a mucosa labial e bucal; os dois terços posteriores da língua; a região retro-molar; assoalho bucal; o palato e a gengiva (OMAR, 2015).

O carcinoma de células escamosas pode se originar de lesões ou condições pré-malignas. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são consideradas condições pré-malignas: a leucoplasia; a eritroplasia; o líquen plano oral; a estomatite nicotínica; a queratose induzida pelo tabaco e a fibrose submucosa. A leucoplasia é a condição clínica mais comum, tendo uma prevalência mundial de 2,6%. De 5 a 18% dos casos das condições orais pré-malignas podem se transforma em carcinoma, segundo dados da literatura (GONZALEZ-PEREZ et al., 2010).

A leucoplasia pode ser caracterizada como uma placa branca que não pode ser diagnosticada clinicamente e histologicamente como nenhuma outra condição. A prevalência dessa condição é de 1% considerando a população de todas as idades, a proporção entre

homens e mulheres acometidos varia dependendo da região estudada. O principal fator etiopatogênico para essa condição é o fumo. A presença da leucoplasia aumenta significativamente a incidência de câncer bucal (WAAL et al., 2011).

Histologicamente a leucoplasia pode se apresentar apenas como uma acantose e hiperqueratose, mas em casos mais graves pode-se visualizar atipia (displasia) epitelial que varia de grau leve a severo. Para a transformação maligna, é importante a presença atipia (displasia) epitelial moderada ou severa. Observa-se que em torno de 11 a 36% dos casos que apresentam essa alteração se transformam em carcinoma em uma média de tempo de 33, 6 meses (WAAL, 2014).

Para o diagnóstico dessas alterações o padrão ouro é a biópsia seguida de exame histopatológico do tecido. No entanto, a biópsia tem as suas limitações por ser uma técnica invasiva o que dificulta a sua execução pelos profissionais e gerando implicações psicológicas para alguns pacientes (SHASHIKALA et al., 2015). Atualmente, tem se aumentado o interesse por técnicas não invasivas indolores para o diagnóstico das alterações precoce do câncer. Isso facilita e aumenta a frequência dos exames feitos nos pacientes (KAZANOWSKA; HAŁOŃ; RADWAN-OCZKO, 2014).

Tem se preconizado que para a realização do diagnóstico precoce das alterações bucais é ideal o uso de uma técnica simples, rápida e eficiente que pudesse ser usada na população como triagem. Dessa forma, a citologia esfoliativa é um procedimento seguro e fácil de ser executado durante o exame bucal de rotina (MERCADANTE; PADERNI; CAMPISI, 2012).

## 2.2 Citologia esfoliativa

A citopatologia é o estudo microscópico de amostras de células coletadas das superfícies mucosas (através de raspagens ou lavagens) ou de tecidos internos através de aspiração com agulha fina (BÖCKING et al., 2010).

As amostras para a citologia oral podem ser obtidas da mucosa jugal, palato duro e mole, borda lateral da língua, soalho bucal e lábio inferior (KAZANOWSKA; HAŁOŃ; RADWAN-OCZKO, 2014). As células podem ser obtidas naturalmente fazendo uso de bochechos ou artificialmente através da raspagem da mucosa. A raspagem apresenta algumas vantagens pois, pode-se obter células em quantidade suficiente de sítios distintos e não causa irritação. Os instrumentos mais usados para a raspagem (esfoliação) são: espátulas de

madeira, metal ou plástico; curetas dermatológicas; swabs estéreis e escovas citológicas (MULKI et al., 2015).

A citologia esfoliativa oral por ser uma técnica simples, não invasiva, indolor e rápida pode ser realizada por qualquer dentista em seu consultório. É um método mais bem tolerado que a biópsia pelo paciente, e por isso deveria ser usada em programas de triagem para o diagnóstico precoce de câncer bucal (NADAF et al., 2014).

No entanto, o uso da citologia para o diagnóstico das lesões orais ainda é pouco popular, mas essa técnica pode ter grande utilidade no diagnóstico prévio de várias lesões da cavidade bucal (PALLAVAN et al., 2014).

Atualmente, alguns trabalhos demonstram que a citologia pode ser utilizada para monitoramento e controle de lesões suspeitas, como exame adicional para detecção precoce de câncer bucal, assim como fazer parte de protocolo de controle pós-tratamento do câncer de boca (PROIA et al., 2006; SANKHLA et al., 2014).

Após a coleta das células, as mesmas são fixadas e coradas pela técnica de Papanicolaou. O método de Papanicolaou utiliza um conjunto de corantes que tem como objetivo evidenciar as variações morfológicas e metabólicas celulares. Esse método utiliza três corantes: a hematoxilina (um corante básico); a eosina (um corante ácido) e um corante policromático. As etapas para realização dessa coloração podem ser resumidas nas seguintes:

1. Hidratação com banhos decrescentes de álcool;
2. Coloração com os corantes nucleares e citoplasmáticos;
3. Desidratação, clarificação e selagem das amostras (SOUSA et al., 2014).

De acordo com a morfologia, pode se definir três tipos celulares na cavidade bucal: as células parabasais como forma oval e núcleo em posição central (raramente encontradas em esfregaços bucais normais); as células intermediárias com predominância do citoplasma sobre o núcleo e cromatina granular, apresentam coloração cianófila; as células superficiais com citoplasma amplo e achatados e núcleo picnótico, exibindo coloração eosinofílica e as células anucleadas com citoplasma achatado e sem núcleo (SOUSA et al., 2014; TAGHAVI; YAZDI, 2015).

Em pacientes expostos à agentes carcinogênicos tais como o fumo, o padrão de maturação celular pode estar alterado. Estudos demonstram que pacientes fumantes apresentam número aumentado de células anucleadas em relação à pacientes não fumantes, indicando uma maior ceratinização da mucosa bucal de pacientes fumantes. Essa observação

também pode indicar aumento de alterações metaplásicas e perda de adesividade celular (SANKHLA et al., 2014; VERMA et al., 2015; NADA, a).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Delineamento do estudo

Este estudo foi submetido ao comitê de ética em pesquisa em humanos (CEP) do Centro Universitário de Lavras (Unilavras) obedecendo a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado com número de CAAE; 53374216.1.0000.5116. Para a realização desta pesquisa foram selecionados aleatoriamente 40 pacientes do sexo masculino atendidos nas Clínicas Odontológicas do Centro Universitário de Lavras (Unilavras) e na clínica do Unilavras na UFLA no período de Abril e Maio de 2017. Para se chegar ao número de pacientes necessários para o estudo considerou-se a seguinte população de estudo: nas clínicas odontológicas (7 clínicas em funcionamento, com 35 alunos que atendem por semestre 2 pacientes em média) são atendidos em média 450 pacientes adultos por semestre, ou 112 pacientes por mês aproximadamente. A estimativa é que 40% dos pacientes são do sexo masculino, com aproximadamente 80% desses pacientes acima de 30 anos, assim conclui-se que 144 pacientes do sexo masculino acima de 30 anos são atendidos por semestre. Considerando que a coleta das amostras foi realizada durante dois meses teremos um total de 72 pacientes como população final do estudo, e considerando os critérios de inclusão e exclusão, avaliamos 40 pacientes. A coleta de dados e amostra somente foi realizada após a autorização pelo coordenador e supervisor das clínicas. Além da autorização da Coordenadora de Saúde da Pró-reitoria de Assuntos Estudantis e Comunitários (PRAEC) da UFLA. Os pacientes que participaram da pesquisa após a leitura, compreensão e assinatura do TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) foram separados nos seguintes grupos experimentais:

- 20 pacientes com idade entre 30 e 60 anos, sexo masculino, sem nenhuma lesão bucal que nunca apresentou história de uso de tabaco/fumo;
- 20 pacientes com idade entre 30 e 60 anos, sexo masculino sem nenhuma lesão bucal que tem história de uso de tabaco/fumo regular há mais de 15 dias.

##### 3.1.1 Critérios de Inclusão e Exclusão

Os seguintes critérios de inclusão foram usados:

1. pacientes do sexo masculino que assinaram voluntariamente o TCLE;
2. pacientes entre 30 e 60 anos de idade;
3. pacientes que fazem uso regular de qualquer tipo de fumo/tabaco há mais de 15 dias;
4. pacientes que nunca fumaram;
5. pacientes sem nenhuma lesão na cavidade bucal.

E os critérios de exclusão são:

1. pacientes do sexo masculino que não quiseram participar do estudo;
2. pacientes que foram submetidos à qualquer procedimento cirúrgico recente que impossibilite a coleta da amostra;
3. pacientes que estiveram em situação de emergência ou urgência;
4. pacientes que fazem uso esporádico de tabaco.

### 3.1.2 Riscos e Benefícios

A pesquisa envolveu riscos mínimos tais como: constrangimento, desconforto ou sensação dolorosa na hora da coleta do material. Para minimizar ao máximo os riscos, o pesquisador inicialmente explicou detalhadamente e com linguagem de fácil entendimento ao participante da pesquisa os objetivos e a metodologia a ser usada. Explicou também que todos os dados coletados ficarao sob sigilo e em nenhuma hipótese o paciente foi identificado. Se mesmo assim, o paciente continuou a se sentir constrangido, ele pode desistir de participar da pesquisa e caso ele concordou em participar, foi conduzido para uma sala reservada onde foi realizada a coleta.

Para minimizar a sensação de desconforto ou dor que o paciente sentiu, o pesquisador usou previamente, se necessário, uma pomada anestésica no local da coleta do material.

### 3.1.3 Coleta de dados e amostras

Os dados dos pacientes como: idade, presença de doença sistêmica, uso de medicamento regular e história de uso ou não de fumo foram coletados através de um instrumento de coleta de dados.

Além do registro dos dados dos pacientes, foram feitas coletas da mucosa bucal da borda lateral da língua (2/3 posteriores) bilateralmente (lado esquerdo e lado direito) usando

a técnica de citologia esfoliativa. Essa técnica consistiu em passar uma espátula de madeira previamente umedecida em soro fisiológico na mucosa bucal para esfoliar a superfície. É uma técnica simples, rápida, indolor, não invasiva e que não requer o uso de anestesia. A coleta foi feita da seguinte forma:

1. O paciente fez inicialmente um bochecho com água ou soro fisiológico para remover resíduos sólidos da cavidade bucal;
2. O pesquisador realizou a raspagem da mucosa da região de coleta usando uma espátula de madeira umedecida previamente no soro fisiológico;
3. O pesquisador realizou o esfregaço em uma lâmina de vidro identificada com o número do paciente;
4. O pesquisador fixou o material com álcool 70% ou spray fixador.
5. O pesquisador acondicionou a lâmina em recipiente próprio, identificou com o nome do paciente, preencheu a ficha de biópsia e enviou para o laboratório de histopatologia para realização da coloração de Papanicolaou.

#### 3.1.4 Coloração e Análise Citológica

No laboratório de histopatologia as lâminas foram coradas usando a técnica de Papanicolaou. Esse método utilizou-se um conjunto de corantes que teve como objetivo a evidenciação das variações na morfologia e dos graus de maturidade e de atividade metabólica celular. Se baseou nas ações de um corante básico (com afinidade pelo núcleo das células: a hematoxilina), um corante ácido (que se combina com o citoplasma das células queratinizadas: orange G) e um corante policromático (que oferece tonalidades de cores diferentes no citoplasma das células: EA-65). Este método abrangeu cinco etapas:

1. Hidratação: esta etapa requereu a reposição gradual da água das células por meio de banhos alcoólicos de concentrações decrescentes até a água destilada.
2. Coloração nuclear: as células hidratadas puderam agora receber um corante aquoso para corar os núcleos (hematoxilina de Harris).
3. Desidratação: para receber corantes alcoólicos citoplasmáticos, retirou a água das células com banhos alcoólicos de concentrações crescentes.

4. Coloração citoplasmática: nesta etapa, o citoplasma das células foi corado pelos corantes orange G e EA-65, de modo a diferenciar com diversas tonalidades o citoplasma das células de acordo com a sua maturidade e metabolismo.

5. Desidratação, clarificação e selagem: a água foi retirada com concentrações alcoólicas crescentes, clarificadas e seladas com meios permanentes hidrofóbicos.

Após a coloração de Papanicolaou, as lâminas foram analisadas usando um microscópio óptico binocular da marca Zeiss. Os seguintes critérios foram usados:

#### 1. CRITÉRIOS CITOPLASMÁTICOS DE MALIGNIDADE:

- As células de uma mesma camada apresentam afinidade tintorial e densidade citoplasmática variáveis;
- Células de formato anômalos (células em fibra, em girino, em raquete);
- Variam em tamanho e forma;
- Vacuolizações atípicas.

#### 2. CRITÉRIOS NUCLEARES DE MALIGNIDADE (Através destes critérios, o citopatologista tem condição de diagnosticar uma célula como displásica ou neoplásica):

- Cariomegalia é o crescimento do núcleo acima do usual. Deve-se a uma maior quantidade de DNA e pela presença de cromatinas gigantes e anômalas.
- Hiperchromasia: maior afinidade tintorial do núcleo. Os núcleos se coram mais intensamente. Deve-se a maior riqueza de DNA.
- Cromatina grosseira e irregular é um dos maiores critérios citomorfológicos de malignidade. As células normais possuem cromatina finamente distribuída e uniforme. As células atípicas exibem cromossomas anômalos, grandes e irregulares que se somam em cromatinas também grandes e irregulares.
- Espaços vazios é outro grande critério de malignidade. O arranjo irregular da cromatina faz com que apareçam cavidades no núcleo.
- Membrana nuclear grosseira e irregular - devido a um arranjo também irregular da cromatina, nas imediações da face interna da carioteca.
- Contorno nuclear irregular - determina formatos nucleares bastante diversos.

- Presença de nucléolos múltiplos, proeminentes e irregulares é indicativa de neoplasia pouco diferenciada ou de adenocarcinoma. É um grande critério de malignidade

### 3.1.5 Confidencialidade e Sigilo dos dados

O pesquisador assumiu a responsabilidade de manter a confidencialidade e sigilo de todas as informações técnicas e científicas e outras relacionadas ao projeto.

## 4 RESULTADOS

Foi realizada a citologia esfoliativa da mucosa jugal de 40 pacientes, sendo 9 fumantes e 31 não fumantes. Nesse grupo, a média de idade dos pacientes e a ausência ou a presença de doenças sistêmicas estão representados no Gráfico 01 e 02, respectivamente.

Gráfico 1 - Média de idade ( $\pm$ SD) dos pacientes com amostras coletadas da mucosa jugal.

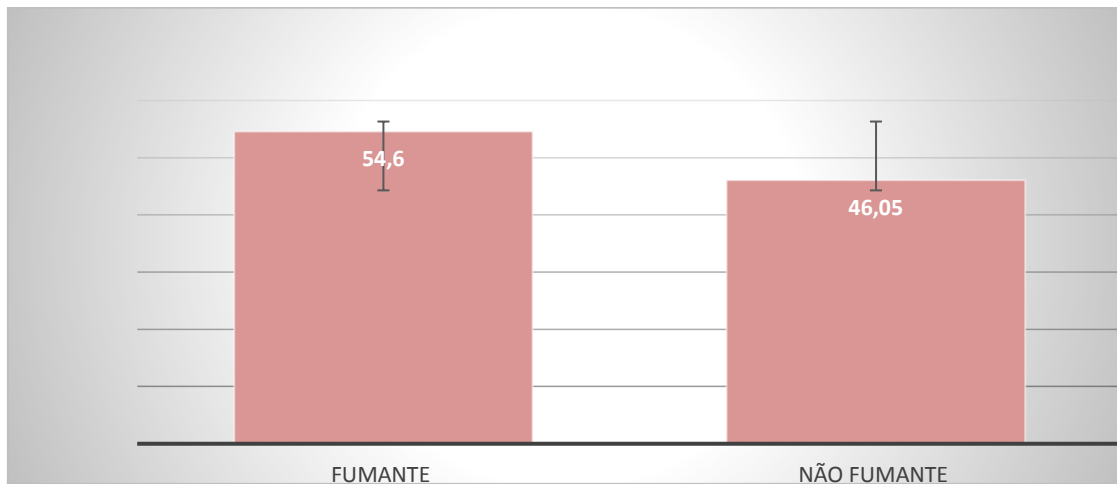
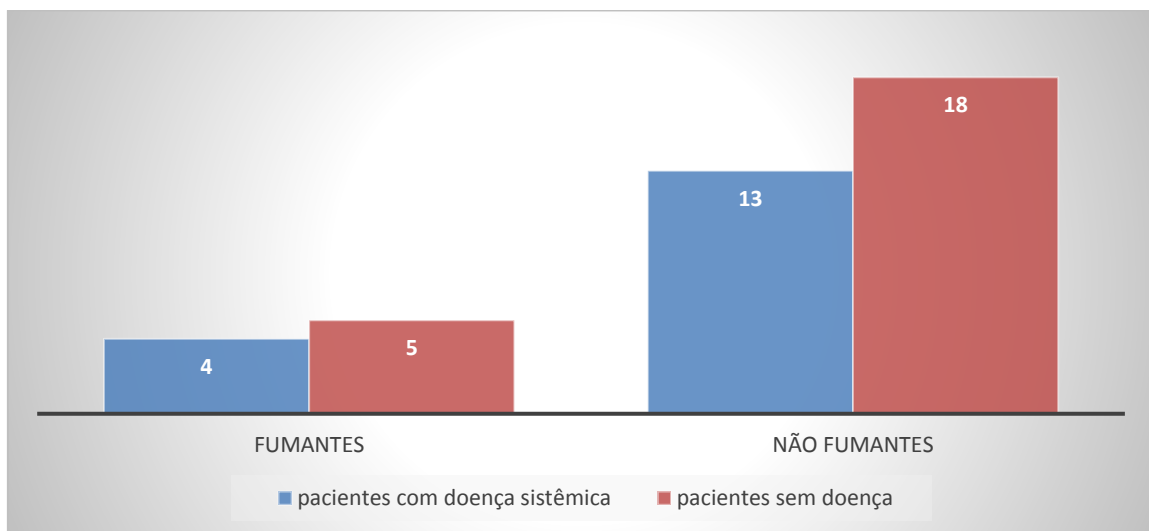


Gráfico 2 - Pacientes portadores ou não de doenças sistêmicas com amostras coletadas na mucosa jugal.

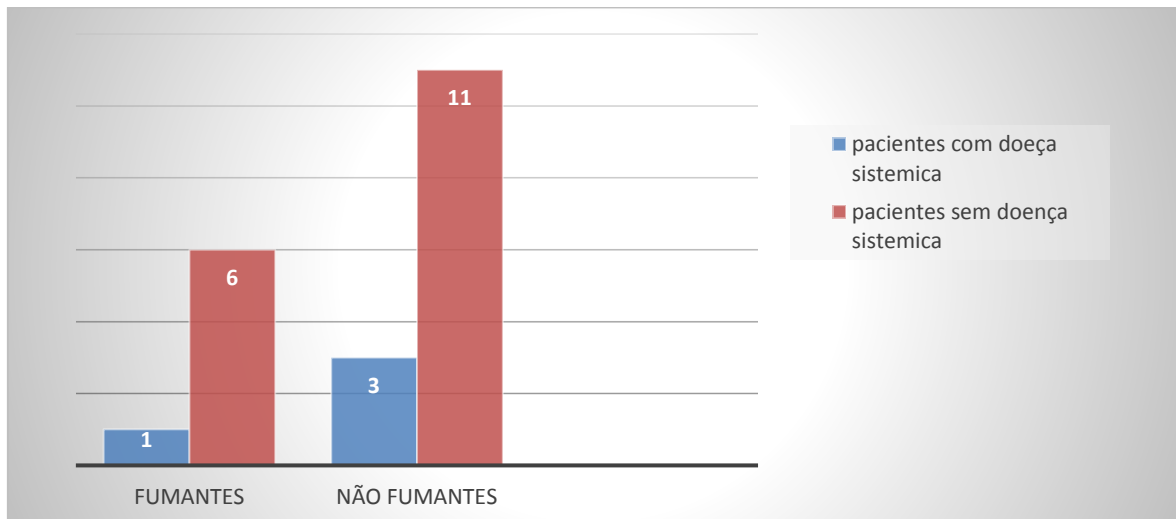


Também foi realizada a citologia esfoliativa da borda lateral da língua de 21 pacientes, sendo 7 fumantes e 14 não fumantes. Os achados clínicos como média de idade, uso ou não de medicamentos estão representados nos Gráficos 03 e 04, respectivamente.

Gráfico 3 - Média ( $\pm$ SD) de idade dos pacientes com amostras coletadas na borda lateral da língua.

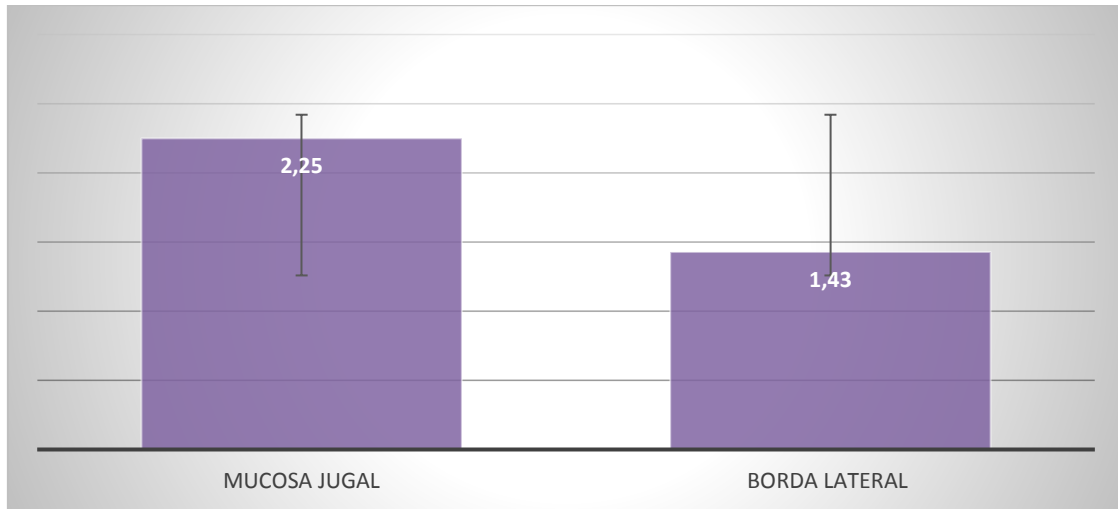


Gráfico 4 - Pacientes com ou sem doença sistêmica com amostras coletadas na borda lateral da língua.



Foi analisado também a quantidade de cigarro que os pacientes usavam, conforme o gráfico 5.

Gráfico 5 - Média ( $\pm$ SD) de maços de cigarro que os pacientes fumavam, considerando o local da coleta das amostras.



As amostras coletadas na mucosa jugal e borda lateral da língua foram submetidas à coloração de Papanicolau e as lâminas foram examinadas por um patologista, e os seguintes resultados podem ser visualizados nas tabelas abaixo:

Tabela 1 - Classificação citológica de Papanicolau para pacientes com amostras coletadas na mucosa jugal.

Pacientes com amostras coletadas na mucosa Jugal			
Pacientes	Idade	Quantidade fumo ( maço)	Classificação citológica
1	70	2	2
2	58	1	1
3	56	3,5	2
4	62	2,5	2
5	52	1,5	1
6	35	1	1
7	48	1	1
8	57	5,5	2
9	53	3	5

Tabela 2 - Classificação citológica de Papanicolau para pacientes com amostras coletadas na borda lateral de língua.

Paciente	Classificação citológica (lado esquerdo)	Classificação citológica (lado direito)
1	1	1
2	1	2
3	1	2
4	1	1
5	2	2
6	1	1
7	1	1

Para verificar a correlação entre as variáveis: achados citológicos; quantidade de fumo e idade do paciente foi utilizado o teste de Correlação (função CORREL do Excel). Para os pacientes com amostras coletadas na borda lateral de língua o teste de correlação foi de 1, demonstrando a forte correlação entre a classificação citológica e a quantidade de fumo usado pelo paciente. Nos pacientes com amostras coletadas na mucosa jugal a correlação foi forte ( $p=0,76$ ) entre a quantidade de fumo usado pelo paciente e a classificação citológica. Não houve correlação entre a idade e a classificação citológica. Também não foi possível verificar correlação entre a presença ou ausência de doenças sistêmicas e uso de medicamentos com os achados citológicos.

## 5 DISCUSSÃO

Neste trabalho foi realizada a técnica de citologia esfoliativa seguida da coloração de Papanicolau para estudar as alterações celulares precoces do câncer de boca. Vários trabalhos científicos demonstram que a busca por alterações precoces induzidas pelo fumo é importante no processo de prevenção e diagnóstico precoce dessa doença (EDRIS *et al.*, 2011; VERMA *et al.* 2014; MAHMOUDI *et al.*, 2015). Várias técnicas podem ser utilizadas para detectar essas alterações celulares (SAMAN, 2012). Neste trabalho foi possível verificar que a execução da técnica de citologia esfoliativa não trouxe nenhum desconforto ao paciente, é rápida e de baixo custo, o que auxilia no uso rotineiro da mesma. Essa percepção está de acordo com vários outros estudos (SAHAY *et al.*, 2017; BALDAWA *et al.*, 2017). Edris *et al.* (2011) realizaram um estudo onde foi investigado a acurácia da citologia esfoliativa no diagnóstico precoce de carcinoma de células escamosas. Os autores avaliaram 100 pacientes, 50 sem nenhuma lesão na cavidade bucal e 50 com diagnóstico de lesões bucais (leucoplasias, carcinoma de células escamosas e lesões benignas). Os autores verificaram uma acurácia de 92% da citologia esfoliativa para o diagnóstico de carcinoma de células escamosas, concluindo que essa técnica que é barata e de fácil execução pode ser bastante útil para o diagnóstico precoce de lesões malignas e pré-malignas.

A divisão dos grupos, neste trabalho, foi realizada com base no conhecimento da maior prevalência de câncer de boca em homens entre 25 a 70 anos de idade e usuários do tabaco há pelo menos 5 anos (MAHMOUDI *et al.*, 2015). Foi avaliado bilateralmente a mucosa jugal de 40 pacientes, sendo que 9 eram fumantes e 31 não fumantes. Dos pacientes fumantes, 44,4% eram portadores de doenças sistêmicas e fumavam em média 2,25 maços de cigarro por dia. Os pacientes selecionados não eram alcoólatras. A opção por não selecionar pacientes etilistas crônicos se deveu ao fato que o álcool altera a mucosa bucal. Assim, neste estudo apenas a alteração da mucosa bucal induzida pelo fumo foi captada.

As amostras da mucosa jugal foram coradas e classificadas através da técnica de Papanicolau. Em 1941, George N. Papanicolaou criou a primeira terminologia (classe I, II, III, IV e V) para classificar células normais e diferentes tipos de alterações citológicas, sendo uma metodologia quase que sempre utilizada para diagnóstico de alterações cervicais (AGUIAR *et al.*, 2011). No entanto, vários estudos têm utilizados a citologia esfoliativa e a técnica de Papanicolau para análises de alterações bucais. Verma *et al.* (2014) usaram a citologia esfoliativa através da citomorfometria para verificar as diferenças nucleares entre amostras de carcinoma de células escamosas, displasia e mucosa normal de 90 pacientes. Os

autores verificaram que a área do núcleo aumentou significativamente nas displasias e carcinomas quando comparados com as amostras da mucosa normal, demonstrando que esses critérios podem ser utilizados para acompanhar ou prever as lesões pré-malignas.

Sankla *et al.* (2014) também observaram através da citologia esfoliativa e coloração de Papanicolau a área do núcleo de pacientes diabéticos e normais, demonstrando que o grupo diabético apresentou alterações nucleares mais evidentes que o grupo controle. Os autores enfatizaram que essa técnica pode ser bastante útil para o diagnóstico da doença.

As amostras analisadas neste estudo foram classificadas em classe I e II de Papanicolau, sendo que as amostras de pacientes fumantes eram em sua maioria classe II. Foi realizado um teste de correlação ( $p=0,76$ ) demonstrando uma forte associação entre a classificação de Papanicolau e a quantidade de fumo usado pelo paciente. Esses achados são corroborados por Seifi *et al.* (2013) que realizaram um estudo com 40 pacientes fumantes, 40 pacientes usuários de “waterpipe” e 40 pacientes normais utilizando a técnica de Papanicolau. Os autores demonstraram um aumento do tamanho da área do núcleo e uma redução do tamanho do citoplasma progressivamente nos pacientes fumantes, nos usuários de “waterpipe” e nos pacientes normais. Os autores concluíram que os pacientes fumantes e usuários de “waterpipe” apresentam mais alterações citológicas que os pacientes normais. Abdullah *et al.* (2016) realizaram um estudo com amostras citológicas do dorso de língua e mucosa jugal de pacientes fumantes e não fumantes. As amostras foram coradas pela Hematoxilina de Harris e analisadas no microscópio ótico. Os autores enfatizaram que o uso de cigarro aumenta a quantidade de atipia epitelial em ambos os sítios e que a citologia esfoliativa é uma técnica que pode ser usada para realizar triagem da população em risco para lesões malignas e pré-malignas. Udayashankar *et al.* (2016) também verificaram que as alterações morfológicas induzidas pelo fumo e detectadas através da citologia esfoliativa e coloração de Papanicolau são de extrema relevância para realizar triagem da população em risco para lesões malignas e pré-malignas.

Assim, acredita-se que a citologia esfoliativa deve ser implementada na rotina da clínica de diagnóstico oral e pode ser bastante útil para a detecção de alterações precoces do câncer. No entanto, há necessidade de se avaliar morfometricamente o núcleo e o citoplasma das células das amostras coletadas e aumentar o número de casos estudados.

## **6 CONCLUSÕES**

1. A técnica de citologia esfoliativa é barata e de fácil implementação na rotina da clínica de diagnóstico oral
2. Houve forte correlação entre a quantidade de fumo usada pelo paciente e os achados citológicos.

## REFERÊNCIAS

ABDULLAH, F. A. et al. Effects of Tobacco Smoking on the Dorsum of the Tongue and Buccal Epithelium. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 17, n. 10, p. 4713, 2016.

AGUIAR, L. S. et al. Avaliação crítica das nomenclaturas diagnósticas dos exames citopatológicos cervicais utilizadas no Sistema Único de Saúde (SUS). **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 3, p. 144-149, Mar. 2011

BALDAWA, P. S. et al. Levels of salivary thiocyanate and its relation with occurrence of micronuclei using exfoliative cytology in smokers and nonsmokers. **Indian Journal of Dental Research**, v. 27, n. 6, p. 568, 2016.

BÖCKING, A. et al. Role of brush biopsy and dna cytometry for prevention, diagnosis, therapy, and followup care of oral cancer. **Journal of oncology**, Hindawi Publishing Corporation, v. 2011, 2010.

CARRERAS-TORRAS, C.; GAY-ESCODA, C. Techniques for early diagnosis of oral squamous cell carcinoma: Systematic review. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**, v. 20, n. 3, p. e305–15, 2014.

EDRIS, A. M, M.; AHMED, H. G.; MOHAMMED, E. A. Accuracy of oral exfoliative cytology in Sudanese patients undergoing oral biopsy. **RSBO (Online)**, v. 8, n. 3, p. 255-260, 2011.

GONZALEZ-PEREZ, R. R. et al. Leptin upregulates vegf in breast cancer via canonic and non-canonical signalling pathways and nfkb/hif-1 $\alpha$  activation. **Cellular signalling**, Elsevier, v. 22, n. 9, p. 1350–1362, 2010.

KAZANOWSKA, K.; HAŁOŃ, A.; RADWAN-OCZKO, M. The role and application of exfoliative cytology in the diagnosis of oral mucosa pathology—contemporary knowledge with review of the literature. **Adv Clin Exp Med**, 23 (2), p. 299–305, 2014.

MAHMOUDI, F. P.-A. et al. Epidemiology of oral cancer in iran: a systematic review. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 16, n. 13, p. 5427–5432, 2015.

MEHROTRA, R. et al. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. **Molecular Cancer**, BioMed Central Ltd, v. 5, n. 1, p. 11, 2006.

MERCADANTE, V.; PADERNI, C.; CAMPISI, G. Novel non-invasive adjunctive techniques for early oral cancer diagnosis and oral lesions examination. **Current pharmaceutical design**, Bentham Science Publishers, v. 18, n. 34, p. 5442–5451, 2012.

MULKI, S. et al. Oral rinse-based cytology and conventional exfoliative cytology: A comparative study. **Journal of cancer research and therapeutics**, Medknow, v. 11, n. 1, p. 129, 2015.

NADAF, A. et al. A phase contrast cytomorphometric study of squames of normal oral mucosa and oral leukoplakia: Original study. **Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP**, Medknow Publications, v. 18, n. Suppl 1, p. S32, 2014.

OMAR, E. Current concepts and future of noninvasive procedures for diagnosing oral squamous cell carcinoma-a systematic review. **Head & face medicine**, BioMed Central Ltd, v. 11, n. 1, p. 6, 2015.

PALLAVAN, B. et al. Comparison and correlation of candidal colonization in diabetic patients and normal individuals. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, BioMed Central Ltd, v. 13, n. 1, p. 66, 2014.

PROIA, N. K. et al. Smoking and smokeless tobacco-associated human buccal cell mutations and their association with oral cancer? a review. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, AACR, v. 15, n. 6, p. 1061–1077, 2006.

SAHAY, K. et al. Cytomorphometric analysis and morphological assessment of oral exfoliated cells in type 2 diabetes mellitus and healthy individuals: A comparative study. **Journal of Cytology**, v. 34, n. 1, p. 27, 2017

SAMAN, D. M. A review of the epidemiology of oral and pharyngeal carcinoma: update. **Head Neck Oncol**, v. 4, n. 1, p. 1–21, 2012.

SANKHLA, B. et al. Exfoliative cytology of buccal squames: A quantitative cytomorphometric analysis of patients with diabetes. **Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry**, Medknow Publications, v. 4, n. 3, p. 182, 2014.

SHASHIKALA, R. et al. Role of micronucleus in oral exfoliative cytology. **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, Medknow Publications, v. 7, n. Suppl 2, p. S409, 2015.

SOUSA, M. C. et al. Correlation of clinical, cytological and histological findings in oral squamous cell carcinomas. **Oncology letters**, Spandidos Publications, v. 8, n. 2, p. 799–802, 2014.

TAGHAVI, N.; YAZDI, I. Prognostic factors of survival rate in oral squamous cell carcinoma: clinical, histologic, genetic and molecular concepts. **Archives of Iranian medicine**, v. 18, n. 5, p. 314–319, 2015.

UDAYASHANKAR, U. et al. Evaluation of cytomorphometric changes in tobacco users and diagnosed oral squamous cell carcinoma individuals. **Journal of Cytology/Indian Academy of Cytologists**, v. 33, n. 3, p. 125, 2016.

VERMA, R. et al. Evaluation of exfoliative cytology in the diagnosis of oral premalignant and malignant lesions: A cytomorphometric analysis. **Dental research journal**, Medknow Publications, v. 12, n. 1, p. 83, 2015.

WAAL, I. Van der. Oral potentially malignant disorders: is malignant transformation predictable and preventable? **Medicina oral, patología oral y cirugía bucal. Ed inglesa**, Medicina Oral SL, v. 19, n. 4, p. 386–390, 2014.

WAAL, I. van der et al. Early diagnosis in primary oral cancer: is it possible. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 16, n. 3, p. e300–5, 2011.