

JOSÉ MARIA BERTÃO

**ANÁLISE CLÍNICA E HISTOQUÍMICA
COMPARATIVA COMPUTADORIZADA PELO
MÉTODO DA AgNOR DE CARCINOMA
ESPINOCELULAR DE DIFERENTES REGIÕES DA
BOCA DE HUMANOS**

**Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Araçatuba, da
Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", para
concorrer ao Título de Doutor em
Odontologia. Área de concentração
em ESTOMATOLOGIA.**

**Orientadora: Dra. Ana Maria Pires
Soubhia**

**ARAÇATUBA – SP
2003**

JOSÉ MARIA BERTÃO

**ANÁLISE CLÍNICA E HISTOQUÍMICA
COMPARATIVA COMPUTADORIZADA PELO
MÉTODO DA AgNOR DE CARCINOMA
ESPINOCELULAR DE DIFERENTES REGIÕES DA
BOCA DE HUMANOS**

Bertão, José Maria.

B536a Análise clínica e histoquímica comparativa
computadorizada pelo método da Agnor de carcinoma
espinocelular de diferentes regiões da boca de
humanos. / José Maria Bertão. - Araçatuba, [s.n.],
2003.
155 f. :il.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2003

1. Carcinoma espinocelular. 2. Processamento de
imagem assistida por computador. 3. Agnor.

Black D65
CDD 617.601

JOSÉ MARIA BERTÃO

**ANÁLISE CLÍNICA E HISTOQUÍMICA
COMPARATIVA COMPUTADORIZADA PELO
MÉTODO DA AgNOR DE CARCINOMA
ESPINOCELULAR DE DIFERENTES REGIÕES DA
BOCA DE HUMANOS**

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR

Presidente e Orientador

2.º Examinador

3º Examinador

4º Examinador

5º Examinador

Araçatuba, de de 2003

DADOS CURRICULARES

JOSÉ MARIA BERTÃO

NASCIMENTO: 22 de setembro de 1946.

FILIAÇÃO: Primo Bertão
 Rosa Zaccari Bertão

1976 / 1979 Curso de graduação em Odontologia na Faculdade de Odontologia de Presidente Prudente.

1980 / 1985 Professor Assistente da Disciplina de Patologia Geral e Patologia Bucal na Universidade do Oeste Paulista de Presidente Prudente.

1981 / 1985 Curso de Pós Graduação, Nível de Mestrado em Biologia e Patologia Buco Dental na Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp SP.

1985 / 2002 Professor Titular da Disciplina de Patologia Geral e Patologia Bucal na Universidade do Oeste Paulista de Presidente Prudente - Unoeste.

1990 / 2002 Professor Assistente na Disciplina de Estomatologia da Universidade do Oeste Paulista de Presidente Prudente - Unoeste.

1998 / 2002 Curso de pós Graduação em Odontologia Área de Concentração Estomatologia, Nível de Doutorando na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp - SP

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho ao meu pai **Primo Bertão** (in memória) que me ensinou a arte e a importância da leitura para a vida.*

*A minha mãe **Rosa Zaccari Bertão** que sempre me incentivou cada vez mais aos estudos.*

*Dedico este trabalho a minha esposa **Elizabeth Eliza Cacciatore Bertão** que soube com paciência, entender e apoiar a importância desta realização profissional.*

*Dedico também aos meus dois filhos, **Ricardo Cacciatore Bertão** e **Rosane Cacciatore Bertão**, que pelo amor, renova nossa esperança de um futuro cada vez melhor.*

*A Pró Reitora de Assuntos Acadêmicos Professora **Ana Cardoso Maia de Oliveira Lima** pelo Apoio e incentivo na realização desse doutorado, assim como a reitoria da **Unoeste** por tornar possível a realização deste curso.*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Professora Dra. Ana Maria Pires Soubhia, orientadora, amiga e professora, exemplo de dedicação e seriedade, pelas orientações dedicadas a este trabalho, por todos os ensinamentos e pela confiança depositada em mim, toda minha homenagem e agradecimento especial.

A todos os professores do Departamento de Diagnóstico e Propedêutica da F.O .A . pela convivência de vários anos, onde criamos forte relacionamento científico e um forte vínculo de amizade.

Dr. Alvimar Lima de Castro

Dra. Ana Maria Pires Soubhia

Dr. Eder Ricardo Biazolla

Dr. Elersom Gaetti Jardim Jr

Dr. Gilson Machado D´Antônio

Dr . Glauco Issamu Miyahara

Dr. Marcelo Macedo Crivelini

Dr. Norberto Perri Moraes

Dra Renata Callestini

Dr. Takeo Ademar Furuse

Dr. Acyr Lima de Castro nobre professor que sempre nos incentivou ao estudo e sempre nos aconselhou nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer...

À Diretoria da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP, na pessoa do Sr. Diretor Professor Titular Dr. Francisco Antônio Bertóz, pela oportunidade de poder realizar este curso.

Aos meus irmãos Jorge Bertão, Rita Bertão, Diná Bertão, Luiz Bertão, Maria Helena Bertão (In Memoriam) e Maria de Lourdes Bertão que sempre me apoiaram aos estudos.

Aos meus colegas de disciplina de Patologia Professora Arlete Gomes Santos Parizi e Dr. José Luis Parizi que colaboraram comigo nas minhas ausências do Departamento.

Aos meus colegas da Disciplina de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Presidente Prudente Dr. Pedro Ângelo Cintra, Dr. Edison Calixto da Fonseca, Dra. Arlete Gomes Santos Parizi e Dr. Marcos Arcanjo Vendrame que sempre me apoiaram na realização deste Curso.

Aos Funcionários do Laboratório de Anatomia Patológica da UNOESTE que sempre colaboram comigo para que tudo ocorresse dentro da mais perfeita ordem.

Aos meus amigos do curso de Doutorado, Dra. Elaine Maria Sgaviolli Massucato, Dra. Sandra Hall Mestrener e Dr. Élio Shinohara pelos

momentos difíceis e alegres que estivemos juntos, e pela eterna amizade.

A todos os Professores da Faculdade de Odontologia de Presidente Prudente – UNOESTE que sempre deram o seu apoio.

A todos os Funcionários e alunos da Faculdade de Odontologia de Presidente Prudente que prestigiaram o meu trabalho.

A todos os colegas, Funcionários e alunos da Faculdade de Odontologia de Araçatuba que me receberam com carinho.

A todos os Funcionários do Depto. de Diagnóstico e Propedêutica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pela colaboração e dedicação.

Ao Professor Emerson Wruck pela colaboração dos dados Estatísticos.

Ao Professor Paulo Benicio pela revisão gramatical.

Ao Centro de Oncologia Bucal (COB) pela permissão na utilização dos prontuários para coleta de informações.

Ao paciente que cedeu material para realização do trabalho.

Quero também agradecer a Deus por estar sempre comigo em todos os momentos de minha vida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS.....	14
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	18
1 INTRODUÇÃO.....	20
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	24
2.1 Carcinoma espinocelular.....	25
2.1.1 Etiologia.....	27
2.1.2 Apresentação clínica do carcinoma de boca.....	28
2.1.3 Estadiamento do câncer de boca.....	36
2.1.4 Características histológicas.....	39
2.2 Carcinoma espinocelular X Agnor.....	41
3 PROPOSIÇÃO.....	61
4 MATERIAL E MÉTODO.....	63
4.1 Análise clínica.....	64
4.2 Análise histopatológica.....	64
4.3 Análise histoquímica.....	65
4.4 Análise quantitativa e morfométrica.....	68
4.5 Análise estatística.....	73

5 RESULTADO.....	74
5.1 Aspectos clínicos.....	75
5.1.1 Carcinomas de lábio.....	75
5.1.2 Carcinomas de língua.....	76
5.1.3 Carcinomas de assoalho da boca.....	77
5.1.4 Carcinomas de palato duro.....	78
5.1.5 Carcinomas de região retromolar.....	80
5.2 Aspectos histopatológicos.....	89
5.3 Análise quantitativa e morfométrica das regiões organizadoras de nucléolos.....	90
5.4 Avaliação dos dados estatísticos.....	97
5.5 Análise de associação linear.....	101
6 DISCUSSÃO.....	104
7 CONCLUSÃO.....	115
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117
APÊNDICES.....	129
RESUMO.....	152
ABSTRACT.....	154

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Aspectos clínicos do carcinoma espinocelular de assoalho bucal.	33
Figura 2 - Aspectos histopatológicos do carcinoma espinocelular bem diferenciado, apresentando pérolas de queratina e mitoses atípicas (H/E) 400x.	41
Figura 3 - Ideograma dos cromossomos humanos onde se observam os braços curtos dos números 13, 14, 15, 21 e 22.	43
Figura 4 - Desenho de um cromossomo identificado a localização das regiões organizadoras de nucléolos no seu braço curto.	43
Figura 5 - Área de Nors e núcleos corados pela técnica Agnor para serem analisados (1000x).	68
Figura 6 - Equipamento utilizado para análise quantitativa e morfométrica das Nors (Disciplina de Patologia da F.O.P.P. – Unoeste).	69
Figura 7 - Área das Nors circundadas para análise (1000x).	70
Figura 8 - Área das Nors circundadas e selecionadas para análise (1000x).	71
Figura 9 - Áreas das Nors circundadas e selecionadas para análise (1000x).	71
Figura 10 - Planilha com resultados da contagem das Nors, núcleos e áreas para compor o trabalho.	72

Figura 11 - Planilha com os resultados da contagem dos núcleos e áreas para compor o trabalho.	72
Figura 12 - Dados representativos dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação ao local anatômico.	81
Figura 13 - Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação ao sexo.	82
Figura 14 - Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação à idade.	83
Figura 15 - Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação à raça.	84
Figura 16 - Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação ao estadiamento clínico (TNM).	85
Figura 17 - Distribuição dos dados carcinoma espinocelular bucal em relação ao grau de diferenciação.	86
Figura 18 - Distribuição dos dados de carcinoma espinocelular bucal em relação ao tabagismo.	87
Figura 19 - Distribuição dos dados de carcinoma espinocelular bucal em relação ao etilismo.	88
Figura 20 - Aspectos histopatológicos do carcinoma espinocelular moderadamente diferenciado, apresentando mitoses atípicas (H/E) 400x.	89
Figura 21 - Área com células coradas pelo Agnor indicando pontos escuros ou castanhos (Nors) no interior do núcleo.	90

Figura 22 - Área com células coradas pelo Agnor indicando os núcleos.	91
Figura 23 - Resultados do número médio de Nors pelo número médio de núcleos.	93
Figura 24 - Número médio de Nor, número médio de núcleo, média da área dos Nor e média da área dos núcleos de cada região da boca.	95
Figura 25 - A existência de uma relação linear entre o número médio de núcleos (y_1) e a área média do núcleo (y_2).	101
Figura 26 - A existência de uma relação linear entre o número de Nors (x_1) e a área média do Nor (x_2).	101
Figura 27 - A existência de uma relação linear entre o número médio de Nors (x_1) e o número médio de núcleos (y_1).	102
Figura 28 - A existência de uma relação linear entre a área média de Nors (x_2) e a área média do núcleo (y_2).	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Número de pacientes (%) com carcinoma espino celular bucal	26
Tabela 2 -	Dados representativos dos casos de carcinoma espinocelular em relação ao local anatômico	81
Tabela 3 -	Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação ao sexo	82
Tabela 4 -	Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação à idade	83
Tabela 5 -	Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação à raça	84
Tabela 6 -	Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação ao estadiamento clínico (TNM)	85
Tabela 7 -	Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação ao grau de diferenciação	86
Tabela 8 -	Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação ao tabagismo	87
Tabela 9 -	Distribuição dos casos de carcinoma espinocelular bucal em relação ao etilismo	88
Tabela 10 -	Resultados do número médio do Nors pelo número médio de núcleos	93

Tabela 11 -	Número médio de Nors, número médio de núcleo, média da área das Nor e média da área dos núcleos de cada área da boca	94
Tabela 12 -	Quadro descritivo com relação ao número de núcleos segundo os fatores	96
Tabela 13 -	Quadro da ANOVA com relação ao número médio de núcleos	96
Tabela 14 -	Contrastes significativos (Teste de Tukey)	97
Tabela 15 -	Quadro descritivo com relação área média dos núcleos segundo os fatores	97
Tabela 16 -	Quadro da ANOVA com relação à área dos núcleos	98
Tabela 17 -	Contrastes significativos (Teste de Tukey)	98
Tabela 18 -	Quadro descritivo com relação ao número de Nors	98
Tabela 19 -	Quadro da ANOVA com relação ao número de Nors	99
Tabela 20 -	Contrastes significativos (Teste de Tukey)	99
Tabela 21 -	Quadro descritivo com relação à área média do Nors	100
Tabela 22 -	Quadro da ANOVA com relação à área média do Nors	100
Tabela 23 -	Contrastes significativos (Teste de Tukey)	100
Tabela 24 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de Nors e área das Nors de carcinoma espinocelular de lábio inferior	137

Tabela 25 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de núcleo e área dos núcleos de carcinoma espinocelular de lábio inferior	138
Tabela 26 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de Nors e área dos Nors de carcinomas espinocelular da língua	139
Tabela 27 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de núcleos e área de núcleo de carcinoma espinocelular da língua	140
Tabela 28 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de Nors e área das Nors de carcinoma espinocelular de assoalho bucal	141
Tabela 29 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de núcleos e área de carcinoma espinocelular de assoalho bucal	142
Tabela 30 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de Nors e área das Nors de carcinoma espinocelular de palato	143
Tabela 31 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de núcleos e área de núcleo de carcinoma espinocelular de palato	144
Tabela 32 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de Nors e área das Nors de carcinoma espinocelular de retromolar	145

Tabela 33 -	Dados quantitativos e morfométricos do número de núcleos e área de núcleos dos carcinoma espinocelular de retromolar	146
Tabela 34 -	Dados quantitativos e morfométricos das médias do número da Nors/Núcleos e área das Nors/Núcleo de carcinoma espinocelular do lábio inferior	147
Tabela 35 -	Dados quantitativos de morfométricos das médias do número da Nors/Núcleo e área das Nors/Núcleo de carcinoma espinocelular da língua	148
Tabela 36 -	Dados quantitativos de morfométricos das médias do número das Nors/Núcleo e área das Nors/Núcleos de carcinoma espinocelular do assoalho bucal	149
Tabela 37 -	Dados quantitativos de morfométricos das médias do número das Nors/Núcleos e área das Nors/Núcleos de carcinoma espinocelular do palato	150
Tabela 38 -	Dados quantitativos e morfométricos das médias do número das Nors/Núcleos e área das Nors/Núcleos de carcinoma espinocelular de região retromolar	151

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EUA	= Estados Unidos da América
Ag	= Símbolo químico da prata
Agnors	= Do inglês argynophilic nucleolar organizer region – Técnica histoquímica de impregnação pela Ag ou refere-se as regiões organizadoras de nucléolos coradas pela prata
CEC	= Carcinoma Espinocelular
Cm	= Centímetro
DNA	= Do inglês deoxyribanucleic acid – ácido desoxirribonucléico
FOA	= Faculdade de Odontologia de Araçatuba
UNESP	= Universidade Estadual Paulista
g	= Grama
G1	= do inglês gap (intervalo) intervalo pós mitótico e pré-síntese do DNA
G2	= do inglês gap (intervalo) intervalo pós-síntese do DNA
GO	= do inglês gap (intervalo) se refere ao intervalo de latência entre as fases do ciclo celular no qual as células se encontram fora do ciclo
H/E	= Hematoxilina e Eosina
HPV	= Do Inglês human papillomavirus – papiloma vírus humano
IBM	= International Business Machines
Ki67	= Tipo de antígeno ou anticorpo mono ou policlonal

NORS	= Do inglês nucleolar organizer regions (Regiões organizadoras de nucléolos)
°C	= Graus Celsius
P120	= Proteína associada à proliferação celular
P53	= Proteína p53 gene supressor de tumor
PCNA	= do inglês proliferating cell nuclear antigen (antígeno de proliferação celular)
RGB	= Tons de cor analisado pelo programa Imajelab – vermelho – verde e Azul
rRNA	- do inglês ribossomal ribonucleic acid (ácido ribonucléico ribossômico)
S	= Refere-se à fase do ciclo celular onde ocorre a síntese do DNA
TNM	= Sistema de Estadiamento do Câncer – tamanho da lesão comprometimento de estruturas adjacentes e evidência de metástases
μ	= Micrômetro
USP	= Universidade de São Paulo
UVR	= Radiação ultra violeta
UICC	= União Internacional contra o câncer
MO	= Microscópio Óptico

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A incidência do câncer de boca é extremamente variável. Ainda hoje é um problema de saúde pública em muitas partes do mundo. Ocorrem atualmente 262.000 óbitos por cânceres da cavidade oral e faringe em todo mundo (Parise Júnior, 2000).

As neoplasias da boca e da faringe ocupam a 6º posição entre os cânceres mais freqüentes no mundo, sendo 7% para o sexo masculino e 3,8% para o sexo feminino, e no Brasil o câncer de boca representa 8% no sexo masculino e 2% no sexo feminino (Parise Júnior, 2000).

O câncer de boca pode ser induzido por uma combinação de fatores: hábitos pessoais, atividade profissional e região onde o indivíduo habita. A incidência do câncer de boca tem acompanhado os padrões de consumo de tabaco e de álcool há várias décadas. Devido à função e à localização, a boca está continuamente em contato com diversos agentes químicos, físicos e biológicos, os quais, atuando isolados ou conjuntamente, aumentariam os riscos de câncer (Parise Júnior, 2000).

A incidência do câncer de boca tem aumentado significativamente em todo mundo, constituindo um grave problema de saúde e pode ocorrer em várias localidades porém as mais comuns são, lábio, borda da língua, e assoalho bucal. Os carcinomas espinocelular da

boca geralmente são diagnosticados em pacientes adultos com mais de 40 anos (Parise Júnior, 2000).

A literatura vem há muitos anos reforçando a importância do valor do diagnóstico precoce do câncer, afirmando que são reduzidas as possibilidades de sobrevida de casos tratados em fases de lesões avançadas.

Ainda hoje persiste um dilema para os patologistas e para os clínicos, a determinação do grau de malignidade das neoplasias, tradicionalmente esta determinação tem-se baseado na avaliação clínica dos profissionais e nos aspectos histopatológicos reconhecidos no exame histopatológico proposto por Broders em 1920, através do exame em H/E. Entretanto métodos mais sofisticados vêm sendo introduzidos na rotina de exames histopatológicos como as análises Imunohistoquímica que estão cada vez mais sendo usados principalmente em grandes centros e nas pesquisas.

Alguns outros métodos, preconizados por vários autores, estão sendo utilizados para colaborar na avaliação dos resultados histopatológicos de neoplasias malignas dentre eles a técnica de coloração pela prata das Regiões Organizadoras Nucleolares (Agnors) é de valor considerável tanto para experimentos, como para um prognóstico histopatológico.

Devido à estreita relação entre as Regiões Organizadoras Nucleolares (Nors) e a atividade celular, o tamanho e/ou o número destas

Nors podem refletir ou predizer a proliferação celular, a transformação ou uma evidente malignidade.

Este método tem recebido grande atenção dos patologistas e as técnicas para o estudo das Nors estão cada vez mais sendo estudadas.

Podemos considerar que esta técnica de coloração das Nors pela prata é oportuna, pois trata-se de uma técnica de confecção de baixo custo e que pode ser utilizada como rotina em qualquer laboratório de histopatologia.

Observando-se as dificuldades que muitas vezes os patologistas encontram para graduar o carcinoma espinocelular e que esta graduação implica diretamente no tratamento do paciente, resolvemos realizar uma análise clínica e histoquímica comparativa computadorizada pelo método AgNOR de carcinoma espinocelular de diferentes regiões da boca de humanos.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Carcinoma espinocelular

A incidência do câncer de boca é extremamente variável. Ainda hoje é problema de saúde pública em muitas partes do mundo.

Ocorrem ainda hoje aproximadamente 262.000 óbitos por câncer da boca e faringe em todo mundo, onde 83% são em países sub-desenvolvidos como a Índia e algumas regiões da França.

Das neoplasias malignas em boca o carcinoma espinocelular é o 6º tipo de câncer mais comum em todo mundo. O número real do câncer ainda é difícil de ser calculado, pois as notificações são limitadas e muitos pacientes são tratados no setor privado sem comprovação adequada (Marks, 1996).

A forma prevalente do câncer de boca é o carcinoma espinocelular também chamado de carcinoma epidermoide, num total de 90 a 95% de todos os casos diagnosticados (Bertotto et al., 1997) e no Brasil esse tipo de câncer está entre as oito neoplasias malignas mais freqüentes do total de casos diagnosticados e estimava-se para o ano 2000, 10.980 casos novos (De Melo et al., 2001).

No Brasil entre as principais causas mortes figuram as neoplasias como 3ª causa, precedidas pelas doenças do aparelho circulatório e causas externas, representando 10,2% dos óbitos em 1990

e 10% em 1994 (Parise Júnior, 2000). No Brasil os dados do período de 1976 a 1980 mostraram que o câncer de boca representou 8% dos casos de câncer incidentes em indivíduos do sexo masculino e 2% do sexo feminino.

Revisão feita dos casos no Centro de Tratamento e Pesquisa do Hospital do Câncer no período entre 1953 a 1980 (Kowalski et al., 1999), indica a prevalência por localização nas seguintes distribuições expressa na Tabela 1.

Tabela 1 - Número de pacientes (%) com carcinoma espino celular bucal

Local anatômico	Masculino	Feminino	Total (%)
Lábio	1.580 (85.5%)	267 (14.5%)	1.847 (40.8%)
Língua	839 (89.1%)	103 (10.9%)	942 (20.8%)
Assoalho	684 (90.5%)	72 (9.5%)	756 (16.7%)
Outros locais	783 (79.7%)	199 (19.3%)	982 (21.7%)
Total	3.886 (85.8%)	641 (14.2%)	4.527 (100.0%)

Fonte: Dib citado por Kowalski (1999, p.114).

O carcinoma espinocelular pode acometer todas as regiões topográficas da boca sendo o lábio inferior e a língua os locais de maior incidência acompanhados pelo assoalho bucal e osso alveolar inferior. No estado de São Paulo, no ano de 1998, a incidência de câncer de língua foi de 7,4 por 100.000 e a de câncer de lábio 5,4 por 100.000 em indivíduos do sexo masculino (Bertotto et al., 1997).

2.1.1 Etiologia

A boca está continuamente em contato com diversos agentes químicos, físicos e biológicos, os quais atuando isolados ou em conjunto, aumentam o risco do câncer. Esses agentes são denominados carcinógenos.

O fumo e o álcool são tidos como fatores importantes na etiologia do câncer de boca e o risco de desenvolver essa neoplasia na mucosa aumenta proporcionalmente com a quantidade de cigarros diários e as doses e frequência do uso de álcool.

O envolvimento do álcool isoladamente no câncer de boca não está totalmente esclarecido, mas numerosos trabalhos têm demonstrado a forte associação entre o seu uso e do tabaco. O consumo concomitante dificulta o acesso aos efeitos desses dois fatores, individualmente (Wight & Ogden, 1998). Em 1997, La Vecchia et al., sugeriram que o álcool e o tabaco representavam 75% das causas de câncer bucal na Europa, enquanto que as deficiências alimentares ou as dietas não balanceadas poderiam representar de 10 a 15%.

Outros autores estudando a gênese do câncer bucal, afirmavam que o tabaco seria responsável por mais de 70% dessas neoplasias e mortes e ao sugerirem o mecanismo de agressão do tabaco, tornou-se difícil implicar o álcool como fator de risco isolado. Eles concluíram que a combinação dos dois fatores aumentariam

significativamente o risco de câncer na boca e ou faringe (Lockhart et al., 1998).

Além do uso do tabaco, elevados níveis de consumo de álcool conferem considerável risco de desenvolvimento do câncer bucal, porém outros fatores estão envolvidos como dietas, má higiene bucal, uso de colutórios bucais e infecções virais (Rodrigues et al., 1998).

Silverman & Surgerman, em 2000 relataram que a causa do câncer bucal é desconhecida e que a transformação maligna seria sempre resultado de um dano genético, porém haveria um aumento no risco de câncer bucal quando da associação de agentes mutagênicos como o tabaco e álcool. Acrescentam ainda que, as mutações gênicas nos casos de câncer de boca têm sido detectadas nos cromossomos 3p, 8p, 9p, 13q, 17p, 18q e 21q. Cruz et al. (1996) consideram que outros fatores também podem estar relacionados ao câncer bucal, como alguns tipos do papilomavírus humano (HPV) e a susceptibilidade genética do indivíduo.

2.1.2 Apresentação Clínica do Carcinoma de Boca

Câncer de Lábio:

O carcinoma espinocelular geralmente apresenta-se como um nódulo ulcerado proliferativo exofítico com evolução moderadamente rápida (meses) endurecido à palpação e com tamanho variando de

poucos milímetros a alguns centímetros, dependendo da fase na qual é diagnosticado.

Ocasionalmente são lesões infiltrativas e firmes sem o componente exofítico (Marks, 1996). Essa lesão pode se espalhar por vários mecanismos: localmente (invadindo músculos, planos capsulares ou periosteo), através dos vasos linfáticos (dando metástase linfática) ou por via hematogênica (Bernstein et al., 1996).

Na maioria dos casos o câncer de lábio ocorre no vermelhão do lábio inferior em torno de 95%, por ser esta área considerada a parte da boca mais exposta a alguns carcinógenos como tabaco, álcool, além da intensa exposição solar (Campbell, 1998). Os tumores do lábio superior contribuem com cerca de 2% a 8% das neoplasias labiais e lesões das comissuras representa menos de 1% (Parise Júnior, 2000).

O efeito das radiações solares na etiologia do carcinoma espinocelular de lábio é evidenciado por sua maior incidência em pessoas de pele clara que se apresentam mais sensíveis à luz solar. Relata-se que entre os carcinógenos orais são citados outros dois fatores no desenvolvimento de câncer de lábio além da radiação ultravioleta (principalmente os raios UVB). O trauma mecânico pode contribuir mas com pouca comprovação experimental e epidemiológica e o fator físico calor, que teria um efeito sinérgico com a carcinogênese química no câncer de lábio (Parise Júnior, 2000).

Em um estudo sobre câncer de lábio na Finlândia, foi relatado uma diminuição em homem de 4,8/100.000 em 1983 – 1987 para 1,4/100.000 em 1993 – 1997 e que a incidência em mulheres foi de 0,30 a 0,36. Relataram que 90% dos pacientes tinham fatores de risco comum que eram domicílio na zona rural, ocupação com exposição constante ao sol e uso do tabaco. Concluíram que a diminuição do uso do tabaco bem como a diminuição da exposição ao sol reduzia o número de casos do câncer de lábio (Alho et al., 2000).

Bernstein et al., em 1996 desenvolveram um trabalho sobre carcinoma espinocelular e relataram que, geralmente esse tipo de lesão, quando ocorre na pele pela agressão da radiação solar, tem índice de metástase muito baixo (entre 0,5 a 5,2%) mas que o carcinoma de lábio a partir de queilites actínicas, apresentaria um comportamento mais agressivo e com maior índice de metástase, entre 3 e 29%.

Em pacientes com alto risco de câncer de lábio, o acompanhamento deve ser pela vida toda e não apenas por cinco anos como se preconiza para as neoplasias malignas. Isso para que se possa detectar um possível segundo tumor primário, ter maiores chances de sucesso terapêutico e aumentar a sobrevida do paciente (Van Der Tol et al., 1999).

Câncer de língua:

A língua é o sítio de acometimento de cerca de três

quartos dos cânceres de toda língua. Nessa região, suas formas mais comuns de apresentação clínica, são as exofíticas e as infiltrativas.

A borda lateral da língua é o subsítio mais freqüente, especialmente no terço médio e posterior (45%) e muitas vezes o tumor estende-se para o assoalho adjacente, com invasão da musculatura e fixação do órgão.

Lesões do terço posterior da língua, também podem progredir através do músculo estiloglosso e para o processo estilóide e avançar através da base da língua ou do assoalho da boca para atingir a orofaringe.

Tumores do ventre lingual acometem rapidamente o assoalho em direção ao osso hióide ou mesmo à mandíbula, levando a fixação da língua. Neoplasias localizada no dorso ou na ponta da língua ou parte da língua são raras.

Os carcinomas de língua no início são indolores, mas em fases avançadas invadem os ramos do nervo lingual, causando dor à região do ouvido a qual tem origem comum do nervo lingual e aurículo temporal, responsáveis pela sensibilidade do condutor auditivo externo e membrana timpânica. Lesões avançadas podem levar à disartria e disfagia.

As neoplasias da língua causam mais metástases cervicais do que tumores de outros sítios, estas metástases podem ser bilaterais ou contralaterais, principalmente nas cadeias jugulocarotídeas

altas. As metástases são de incidência maior quando ocorrem extensões posteriores ou em profundidade do tumor (Parise Júnior, 2000).

Câncer do assoalho da boca:

O câncer do assoalho da boca adquire na maioria das vezes a forma exofítica, podendo apresentar áreas de ulceração. Ocorrem normalmente na região anterior, próximo da mandíbula, e atingem com facilidade a região submentoniana. Executar palpação criteriosa do local, principalmente bimanual é fundamental para avaliação do grau de comprometimento dessas estruturas. O ventre lingual geralmente está comprometido levando à fixação desse órgão (Parise Júnior, 2000).

Como na língua, tais tumores só irão produzir sintomatologia álgica se forem infiltrativos, envolvendo o periósteo mandibular ou ramos do nervo lingual.

Quando os tumores estão próximos à linha média, podem comprometer a drenagem das glândulas submandibulares por obstrução de seus ductos que, por sua vez, podem representar a via de disseminação do tumor. A obstrução do ducto de Warthon leva a um aumento de volume e consistência da glândula submandibular.

A frequência de metástase cervical no momento do diagnóstico do tumor primário chega a 50%, geralmente nos linfonodos submandibulares e subdigástricos. E a disseminação linfática segue pelas cadeias jugulocariotídeas (Parise Júnior, 2000).



FIGURA 1- Aspectos clínicos do carcinoma espinocelular de assoalho bucal.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

Câncer do palato duro:

O carcinoma espinocelular em região de palato duro é frequentemente uma lesão ulcerada com tendência à infiltração das estruturas adjacentes como a cavidade nasal e os seios maxilares, mas, de início, de crescimento predominantemente lateral. Da mesma forma, um tumor diagnosticado no palato duro pode ter origem no assoalho de cavidade nasal ou nos seios maxilares. No palato duro, o carcinoma espinocelular é semelhante à neoplasia maligna das glândulas salivares menores, como os carcinomas adenoide-cístico e muco epidermóide. Estes geralmente se manifestam como tumores submucosos.

No diagnóstico inicial cerca de 10 a 20% dos pacientes apresentam evidências clínicas de metástases cervicais, número baixo em relação aos carcinomas em outros locais da boca. A dor e

sangramento são sintomas tardios, porém quando o tumor atinge o palato mole pode provocar odinofagia ou rinolalia sua extensão posterior pode levá-lo à fossa pterigopalatina.

Metástases à distância não são freqüentes nos casos de carcinoma espinocelular desse local, porém ocorrem em até 12% em casos de neoplasias malignas de glândulas salivares menores.

Câncer do trigono retromolar:

Em região de trigono retromolar podem ocorrer carcinomas que rapidamente atingem estruturas adjacentes como a base da língua, pilares amigdaliano anterior, loja amigdalina, palato mole, mucosa jugal e fossa pterigopalatina. As apresentações clínicas desse tumor nessa região incluem mais comumente as formas infiltrativas e ulcerativas, e o tumor já pode encontrar-se em estágio avançado quando diagnosticado. Mesmo tumores mais superficiais já podem provocar aderência da mucosa ao periósteo da mandíbula.

O comportamento biológico do carcinoma de área retromolar assemelha-se mais a tumores da orofaringe que de cavidade bucal propriamente dita. Estima-se que 50 a 60% dos pacientes já apresentam metástase regional na primeira consulta e que são observadas nos linfonodos jugulodigástricos.

Câncer do rebordo alveolar e mucosa jugal:

No rebordo alveolar observam-se lesões exofíticas e friáveis, fixas às estruturas ósseas adjacentes, devido à grande aderência da gengiva ao periósteo que a recobre.

As lesões podem crescer em direção à mucosa jugal, assoalho da boca, língua ou palato duro. A ausência dos dentes facilita a progressão dos tumores através dos alvéolos dentários e também se associa a um afinamento da cortical mandibular pela reabsorção do osso alveolar, de tal forma que a lesão pode atingir com maior facilidade a medula da mandíbula.

A dor e sangramento, perda de dentes, dificuldade no ajuste da prótese dentária são queixas comuns em portadores de carcinoma de rebordo alveolar. Das lesões da região alveolar, 70 a 80% infiltram o rebordo mandibular sendo a maioria, no terço posterior.

Mais de 30% apresentam metástases cervicais no diagnóstico da neoplasia primária. Lesões do rebordo superior apresentam menor frequência de disseminação linfática enquanto que rebordo inferior normalmente dão metástase em linfonodos da cadeia submandibular, os quais juntamente com os linfonodos da cadeia jugulocarotídea alta também representam o primeiro sítio de disseminação das neoplasias do rebordo superior (Parise Júnior, 2000).

Na mucosa jugal o carcinoma espinocelular é encontrado mais comumente na porção posterior, e com grande frequência

desenvolve-se a partir de uma leucoplasia. Os aspectos clínicos encontrados são dos tipos exofítico, ulcero-infiltrativo e verrucoso. A dor é verificada quando endurecido, odor fétido pode aparecer em fases avançadas da doença.

Apesar da progressão do tumor nessa área ser insidiosa, na maioria dos pacientes já se observa extensão tumoral além da mucosa jugal, em cerca de 50% dos pacientes nota-se a presença de metástases regionais. Em tumores mais anteriormente localizados, as metástases ocorrem em linfonodos submandibulares e aqueles mais posteriores disseminam-se para linfonodos da cadeia jugulocariotídea (Parise Júnior, 2000).

2.1.3 Estadiamento do câncer de boca

O carcinoma espinocelular de boca apresenta um alto nível de metástase e por isso devemos procurar diagnosticar essas lesões o mais precocemente possível, o que resultaria em alto índice de sobrevida dos pacientes e até cura de alguns casos. Em 1982, a União Internacional Contra o Câncer (UICC) e a American Joint Committee On Câncer criaram o sistema TNM que padronizou o estadiamento do câncer. Em 1998 modificações foram executadas na classificação pela União Internacional Contra o Câncer (UICC), para melhorar e atualizar as denominações e classificação das condições do câncer, que estão

descritas no quadro 1. Na região da cabeça e pescoço esse sistema auxilia na determinação da Terapêutica a ser empregada e na definição do prognóstico quanto à disseminação oncoplástica e sobrevida do paciente.

Ao se seguir o sistema TNM são considerados a maior dimensão da lesão, a invasão de estruturas adjacentes, as evidências de metástases cervicais e a distância. As classificações clínicas do envolvimento linfonodal cervical e de metástase à distância (N e M, respectivamente) são as mesmas para os carcinomas do território da cabeça e pescoço. Da composição dos dados citados acima, os pacientes são agrupados em estágios que vão de “0” a “IV” como demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação dos Carcinoma Espinocelular bucal de acordo com o estadiamento clínico (TNM) UICC – 1998

Classificação TNM	Descrição
Tumor primário (T)	
Tx	O tumor primário não pode ser avaliado.
T0	Não há evidências de tumor primário.
Tis	Carcinoma in situ.
T1	Tumor com 2 cm ou menos em sua maior dimensão.
T2	Tumor com mais de 2 cm e até 4 cm em sua maior dimensão.
T3	Tumor com mais de 4 cm em sua maior dimensão.
T4	Lábio: O tumor invade as estruturas adjacentes, p. ex., cortical óssea, nervo alveolar inferior, soalho da boca, pele da face. Cavidade bucal: O tumor invade as estruturas adjacentes, p. ex., a cortical óssea, até a profundidade do músculo extrínseco da língua, seios maxilares, pele. (A erosão superficial isolada do alvéolo dentário por um tumor primário de gengiva não é suficiente para classificá-lo como T4).

Classificação TNM		Descrição	
N – Linfonodos Regionais			
NX	Linfonodos regionais não podem ser avaliados.		
N0	Ausência de metástases em linfonodos regionais.		
N1	Metástase em um único linfonodo homolateral, com 3cm ou menos em sua maior dimensão.		
N2	Metástase em um único linfonodo homolateral, com mais de 3 cm e até 6 cm em sua maior dimensão, ou em linfonodos homolaterais múltiplos, nenhum deles com mais de 6 cm em sua maior dimensão, ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais de 6 cm em sua maior dimensão.		
N2a	Metástase em um único linfonodo homolateral, com mais de 3 cm e até 6 cm em sua maior dimensão.		
N2b	Metástase em linfonodos homolaterais múltiplos, nenhum deles com mais de 6 cm em sua maior dimensão.		
N2c	Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais de 6 cm em sua maior dimensão.		
N3	Metástase em linfonodo com mais de 6 cm em sua maior dimensão. Os linfonodos de linha média são considerados linfonodos homolaterais		
Metástases a distância (M)			
Mx	A presença de metástase à distância não pode ser avaliada.		
M0	Ausência de metástases à distância		
M1	Metástases à distância		
p TNM – Classificação Patológica			
As categorias pT, pN e pM correspondem às categorias T, N e M.			
Grupamento por Estádios			
Estádio 0	Tis	N0	M0
Estádio I	T1	N0	M0
Estádio II	T2	N0	M0
Estádio III	T3	N0	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
Estádio IVA	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	Qualquer T	N2	M0
Estádio IVB	Qualquer T	N3	M0
Estádio IVC	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: Ministério da Saúde, Secretaria de Assistência à Saúde, Instituto Nacional de Câncer (1998).

O tamanho do tumor, avaliado pelo sistema TNM, tem um importante valor prognóstico, além da avaliação clínica, e ainda outros marcadores prognósticos como margens cirúrgicas, aspectos histopatológicos, anomalias das células e as doenças concomitantes (De Melo et al., 2001).

2.1.4 Características histológicas

Os carcinomas de boca não possuem problemas no que se referem ao diagnóstico histopatológico, apesar do seu comportamento biológico não ser uniforme. Desde 1920, Broders propôs uma análise dos aspectos histopatológicos juntamente com uma graduação histopatológica de malignidade:

Grau I bem diferenciado

Grau II moderadamente diferenciado

Grau III pobremente diferenciado

Grau IV indiferenciado

O sistema TNM não considera o grau de diferenciação celular do tumor, o qual não parece estar relacionado ao prognóstico dos carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço de modo geral.

A maior dimensão, está mais fortemente relacionada ao desenvolvimento de metástases regionais do que ao estadiamento propriamente dito, também invasões vasculares, sangüíneas e linfáticas e

perineurais se correlacionam com o prognóstico e não são consideradas pelo estadiamento TNM.

É variável o grau de diferenciação do carcinoma espinocelular, por isso foi subdividido por Broders em graus de I a IV conforme a proporção de células diferenciadas no sentido da cornificação: No grau I há mais de 75/100 células diferenciadas; No grau II, mais de 50/100 células diferenciadas; No grau III, mais de 25/100; e no grau IV, menos 25/100 células diferenciadas. Esta subdivisão, baseada em porcentagem, é de difícil execução por exigir contagem no número de células e por isto não tem valor prático.

É preferível basear-se o diagnóstico na análise qualitativa de todo o preparado microscópico ou, de preferência, de vários cortes do mesmo bloco ou de blocos de pontos diferentes do tumor. Assim se pode avaliar o grau de diferenciação, baseado sobretudo na formação da substância córnea. Neste exame também se avalia a freqüência das atípias celulares (Fonseca, 1981).

O conjunto de aspectos observados permite dizer o grau de malignidade: No grau I, a diferenciação é grande, com pontes intercelulares (como na epiderme normal), freqüentes pérolas córneas e poucas e discretas atípias celulares. No grau II, a ceratinização é muito menos evidente, havendo presença de pérolas córneas e as atípias celulares são mais freqüentes e evidentes. No grau III, a ceratinização falta em muitas áreas, havendo paraceratose ou cornificação de células

isoladas com a maioria de células atípicas e mitose atípicas. No grau IV, (ou indiferenciado) a ceratinização não existe geralmente, e as células são fusiformes na sua maioria e com Núcleos de tamanhos diversos e hipercromáticos, além do grande número de mitoses atípicas (Fonseca, 1981).

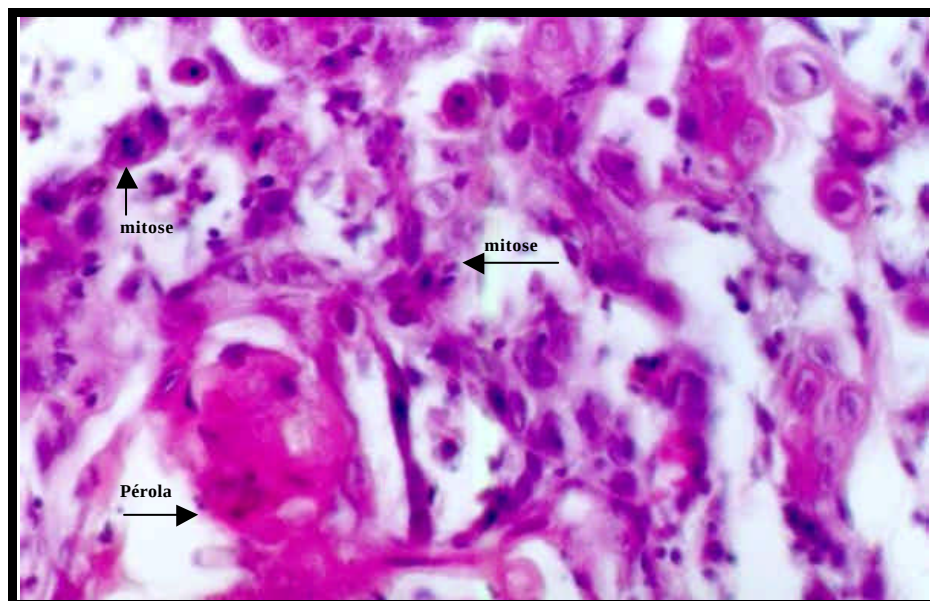


FIGURA 2- Aspectos histopatológicos do carcinoma espinocelular bem diferenciado, apresentando pérolas de queratina e mitoses atípicas (H/E) 400x.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

2.2 Carcinoma Espinocelular X Agnor (Técnica de Evidenciação das Regiões Organizadores de Nucleolares - Agnor)

Várias técnicas têm sido utilizadas com finalidade de se conseguir observar o comportamento e modificações das células em diferentes espécies. Uma técnica que ultimamente vem sendo usada com maior frequência é a da Agnor, a qual foi descrita em 1975 por Goodpasture & Bloon. Estes autores observaram que as proteínas

relacionadas às Nors poderiam ser demonstradas com um simples método de coloração pela prata. Mais tarde esta técnica sofreu modificações (Plotton et al., 1986), e tornou-se conhecida como técnica da Agnor e pode ser aplicada em cortes histológicos de rotina nos serviços de Histopatologia.

A técnica da Agnor que utiliza a prata coloidal como veículo, se ligaria às proteínas acídicas, não histônicas (Rna Polimerase I e C23 (nucleolina) e B23 (numatrin) associadas às chamadas regiões organizadoras de nucléolos (Nors). As regiões organizadoras de nucléolos são verdadeiras alças de DNA que contêm genes de RNA Ribossômico que são transcritos para RNA polimerase (Hozak et al., 1986), (Kamel et al., 1990). As Nors estão presentes na Interfase celular dentro dos nucléolos e nos seres humanos estão localizados nos braços curtos dos cromossomos acrocêntricos números 13-14-15-21 e 22 (Babu & Verma, 1985), como vemos na (Figura 3 e 4) com função importante na formação desses nucléolos (Derenzini et al., 1988; Aguiar, 1996; Van Diest et al., 1998; Derenzini et al., 1999; Derenzini, 2000).

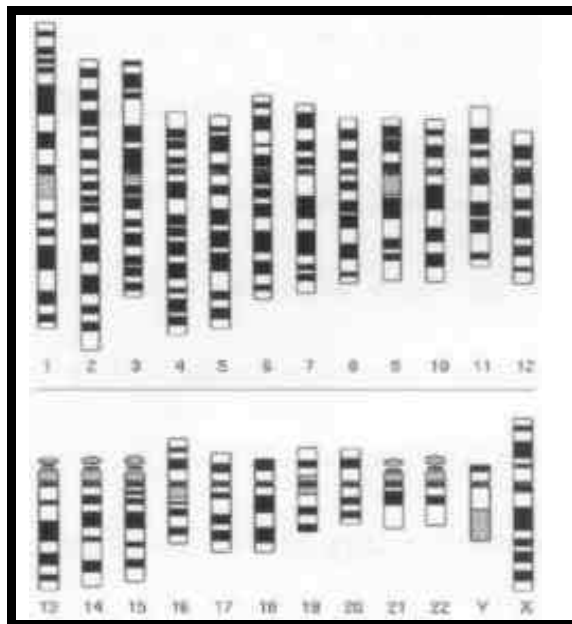


FIGURA 3 - Ideograma dos cromossomos humanos onde observa-se os braços curtos dos números 13, 14, 15, 21 e 22.
Fonte: (www.biologiaarizonaedu)

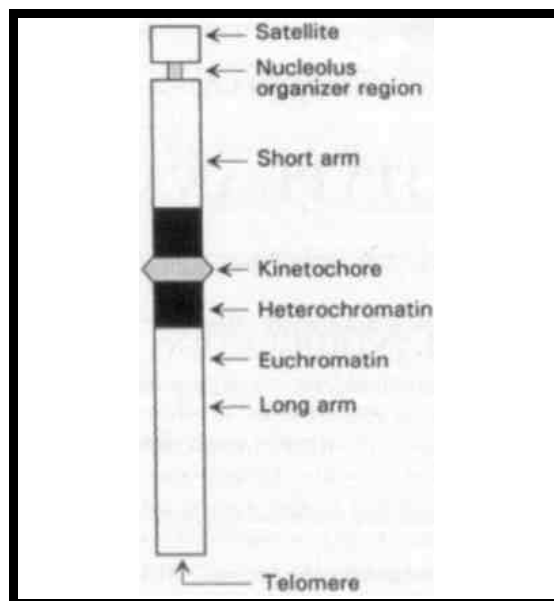


FIGURA 4 - Desenho de um cromossomo identificando a localização das regiões organizadoras de nucléolos no seu braço curto.
Fonte: (www.biologiaarizonaedu)

A natureza bioquímica das Agnors ainda é controversa, mas passou a ser considerada um marcador da atividade e do potencial de transcrição do DNA possibilitando a aplicação da coloração pela prata para intensificação dessas regiões no material histológico. A coloração pela prata revela a posição ativa de transcrição da Nors dentro do Núcleo em interfase e se traduz visualmente por pontos negros que podem ser identificados ao microscópico óptico (Buys & Osinga 1980; Buys & Osinga 1984; Matolcsy et al., 1992).

Já os números de Agnors numa célula pode refletir o seu grau de ploidia e/ou seu índice de dispersão pelo Núcleo (Underwood & Giri, 1988).

A possibilidade de que a atividade das Nors esteja relacionada à atividade celular e assim talvez à transformação maligna, já foi observada anteriormente (Ploton et al., 1986; Crocker & Nar 1987).

Sano et al. (1991), verificaram que contagens altas de Agnors são muito sugestivas de um prognóstico pior para carcinomas epidermóides de boca. A razão pela qual o número de Agnors aumenta em células malignas quando comparadas com as de tecidos normais não é conhecido. Pode haver um aumento na ploidia, no entanto (Rosa et al., 1990), consideram que em células aneuploides pode haver um número maior de cromossomas, inclusive daqueles que possuem Nors.

Esta técnica vem sendo estudada em inúmeros trabalhos procurando relacionar, o número e/ou configuração das Nors com as

atividades nuclear e celular bem como critérios de malignidade (Crocker & Nar, 1987; Crocker 1990; Ofner et al., 1990).

Egan & Crocker (1988), usaram esta técnica para analisar e comparar neoplasias benignas e malignas do tecido epitelial e concluíram que o número de Nors dos carcinomas foi maior que nas demais neoplasias indicando assim esta técnica como auxiliar de diagnóstico nas neoplasias cutâneas.

Usando a técnica do Agnor (Crocker & Skilbeck, 1987), observaram que o número de Agnors era maior nos melanomas, comparados com os nevos juncionais e, frente aos resultados, salientaram o auxílio da técnica para diagnóstico diferencial entre lesões melanóticas malignas e benignas na pele.

Vários outros estudos surgiram empregando a análise quantitativa das Nors, e seus resultados colaboraram na distinção entre benignidade e malignidade como vemos nos estudos de pleura normal e mesioteliomas (Ayres et al., 1988), tumores benignos e malignos do colo uterino (Derenzini et al., 1988; Yang et al., 1990), mama normal e lesões benignas e malignas da mama (Smith & Crocker, 1988) tumores de glândulas salivares benignos e malignos (Morgan et al., 1988, Matsumura et al., 1989), endocervix normal e adenocarcinoma in situ e invasivo (Darne et al., 1990). Endométrio normal e hiperplásico, neoplasias intra endometriais graus I, II e III e adenocarcinomas (Hansen & Ostergard, 1990), mucosa gástrica normal, displasia e metaplasia intestinais e

carcinomas gástricos (Rosa et al., 1990), tumores benignos e malignos de glândulas salivares menores (Van Heerden & Raubenheimer, 1991) mucosa oral normal, papiloma e carcinoma epidermóide (Cabrini et al., 1992).

Ainda com objetivo de analisar alterações em mucosa bucal (Schwint et al., 1994), observaram diferenças estatísticas significantes entre o número de Agnor de epitélio normal e epitélio adjacente ao carcinoma epidermóide e concluíram que a técnica auxilia no diagnóstico precoce e conhecimento do crescimento tumoral.

Estudando as leucoplasias bucais pela técnica da Agnor, (Nunes et al., 1990), observaram que a variação de Nors foi alterada de acordo com diferentes graus de atipia celular e salientaram o provável potencial desta técnica no comportamento biológico dessas lesões.

Vários casos de carcinoma espinocelular foram observados por (Sano et al., 1991), que após contar o número de Agnor sugeriram que os casos com maior contagem comportavam-se biologicamente de forma mais agressiva.

Ainda observamos na literatura que essa técnica vem sendo usada em vários outros tipos de lesões benignas e malignas de locais diversos do organismo. Embora as técnicas histopatológicas habituais empregadas atualmente tenham conseguido esclarecer muitas dúvidas dos patologistas, a técnica da Agnor pode trazer maior contribuição sobre o comportamento e diferenciação dos inúmeros

tumores benignos e malignos e portanto, pode ser aplicada na rotina diária colaborando na agilização e precisão dos diagnósticos.

No homem, as Nors estão localizadas nos braços curtos dos cinco pares de cromossomas acrocêntricos dos grupos D (13,14,15,21,22) especialmente nas regiões de constrições que prendem as regiões satélite (Babu & Verma, 1985 , Orrel et al., 1991).

Sano et al. (1991), estudaram a presença de Agnors em carcinomas espinocelulares de boca e tentaram relacionar a graduação histológica com o número de Agnors. Estes autores demonstraram que as lesões com 6 ou mais Nors por núcleo podem ter um comportamento mais agressivo e apresentar um pior prognóstico.

Morita et al. (1991), analisando o significado prognóstico das Agnors em carcinomas de esôfago, concluíram que o prognóstico dos pacientes com número elevado de Agnors era significativamente pior. Estes autores relataram também que o número de Agnors estava intimamente relacionados com as metástases nos linfonodos, com a profundidade da invasão neoplásica e com a extensão da lesão.

Abe et al. (1991), estudaram a diferença citomorfológica entre metaplasia escamosa atípica e carcinoma "in situ" de brônquios. Através da análise com microscopia eletrônica de transmissão, estes autores concluíram que os carcinomas "in situ" mostravam uma formação mais predominante de centros fibrilares e um número mais abundante de grânulos de pericromatina, quando comparados com as metaplasias

escamosas. A formação de centros fibrilares correlacionava-se bem com o número de Agnors no Núcleo. Valores elevados de Agnors representam uma célula mais maligna e o número de Agnors pode ser um indicador do grau de malignidade. Estes autores sugeriram que o número de Agnors é um método muito útil no diagnóstico diferencial principalmente nas lesões borderline do epitélio brônquico.

Orrel et al. (1991), demonstraram que a contagem de apenas 30 Núcleos é suficiente para se obter um número médio de Agnors por Núcleo que seja representativo da lesão.

De acordo com Egan & Crocker (1992), as Nors são partes essenciais dos constituintes nucleolares. Elas podem ser vistas como áreas eletrolucentes ao nível ultra-estrutural que são o equivalente interfásico das Nors cromossômicas interfásicas. Estas estruturas podem ser vistas ao microscópio ótico (m.o) utilizando uma variedade de técnicas. Estas Nors estão envolvidas na produção de ribossomas e, alterações potencialmente qualitativas ou quantitativas nas Nors interfásicas, quando visíveis em relação à atividade proliferativa, podem predizer um diagnóstico ou um prognóstico.

Cabrini et al. (1992), constatou com dados da literatura, que o número absoluto de Agnors poderá permitir uma distinção entre lesões com grau baixo e severo de displasia. Entretanto, outros autores têm demonstrado que o diagnóstico diferencial entre estas lesões com base apenas no valor numérico das Nors é impossível, considerando

essencial a avaliação morfológica.

Segundo Cabrini et al. (1992), o aumento do número, a irregularidade e a diminuição do tamanho das Nors são uma expressão de mecanismos de proliferação e diferenciação alterados, em conjunto com a síntese de novas proteínas oncogênicas presentes no carcinoma.

Mourad et al. (1992), afirmaram que célula com cinco ou mais Agnors relacionava-se com a fração da fase S medidas por meio de citometria de fluxo de DNA. Numa dupla coloração com Agnors e Ki67. Mourad et al (1994) demonstraram que o número de Agnors variava de 1 a 3 Nors nos Núcleos Ki67 negativos enquanto que Ki67 positivos apresentavam de 2 a 12 Agnors. Como a positividade ao Ki67 reflete células que estão em ciclo em muitos sistemas celulares, células com poucas Agnors pertencem a fase G0 ou células em repouso, ao passo que células com números elevados de Agnors representam células em ciclos .

Para Cabrini et al. (1992) e Lo Muzio et al. (1997), o número de Agnors na interfase é um reflexo mais da proliferação do que do grau de malignidade. Uma população celular anaplásica dividindo-se rapidamente provavelmente tem maior proporção de células nos estágios iniciais G1 e, deste modo, com números mais elevados de Agnors, contrariamente, neoplasias com baixo nível de proliferação celular tendem a apresentar uma única Agnor.

Hirsch et al. (1992), não observaram uma relação

significativa entre o número médio de Agnors a localização e a graduação histológica das neoplasias de cabeça e pescoço por eles estudados. Relataram ainda que o número de Agnors correlaciona-se bem com o estágio da lesão, sugerindo que este aspecto provavelmente esteja relacionado à natureza biológica agressiva das neoplasias epiteliais malignas. Isto sugere, mas não prova que o número de Agnors tem um significado prognóstico para tumores em mesmo estágio, visto que presumivelmente o número de Agnors pode alterar-se à medida que o tumor progride.

Warnakulasuriya & Johnson (1993), ressaltaram que alguns relatos sobre a aplicação da técnica Agnors para o diagnóstico histopatológico através de biópsias incisoriais de lesões da cavidade bucal são de valor limitado. Segundo estes autores as Agnors podem apresentar-se de três maneiras: como uma mancha negra dentro do Núcleo representando os nucléolos; como pequenas manchas escuras discretas dentro do Núcleo ou como pequenas manchas negras dispersas no nucleoplasma.

Os autores acima relataram que a interpretação do número de Agnors em população de células altamente estruturadas com um rápido turnover tais como o epitélio da mucosa bucal, pode ser um processo mais complexo comparado a tecidos com populações celulares estáveis. Números elevados de Agnors estão relacionados com o aumento na ploidia celular, com um aumento na atividade Transicional e

em estados de proliferação celular ativa.

Os mesmos autores citados, estudando a distribuição das Nors como marcadores do diagnóstico de hiperqueratose, displasia e carcinoma espinocelulares bucais, concluíram, que o número de Agnors apresenta um marcador prognóstico valioso em muitas condições malignas, incluindo os carcinomas espinocelulares de boca.

De acordo com Kahn et al. (1993), a técnica da Agnors baseia-se na ligação da prata coloidal as proteínas acidicas não histônicas associadas a Nor, (Agnoraps), embora a verdadeira Nor que é o DNA ribossômico, tenha sido originalmente identificado através do RNA radiomarcado. Aceita-se que a argirofilia é uma característica das Nors que estão transcrevendo ativamente. Estas proteínas argirófilas estão provavelmente associadas à RNA polimerase I ou outras proteínas como a C23 (nucleolina) e a proteína B23 (numatrin) (Hall & Levison, 1990). A função dessas proteínas ainda não foi totalmente esclarecida.

Epivatianos (1994), afirmou que o número de Agnors no Núcleo pode refletir o estado de ativação e o grau de malignidade da lesão envolvida. Este método tem sido utilizado para distinguir neoplasias malignas de benignas e para avaliar a graduação histológica de lesões malignas em vários órgãos.

Schwint et al. (1994), relataram que Agnors nos carcinomas espinocelulares estudados por ele, apresentaram-se como aspectos mais irregulares, eram menores e mais abundantes.

Os mesmos autores relataram que o número de Agnors interfásica reflete o índice de proliferação celular, uma população dividindo-se rapidamente apresenta uma maior proporção de células nos estágios iniciais de G1, conseqüentemente, as Agnors são observadas em maior número, por outro lado tecidos com baixa proliferação celular tendem a apresentar Agnors única.

Segundo Epivatianos et al. (1994), o prognóstico do carcinoma espinocelular de boca situado no lábio inferior é melhor do que a dos situados em língua e assoalho bucal. Estes autores estudando uma possível correlação entre a localização e a contagem de Agnors, Não observaram diferenças estatísticas significativas. Afirmaram eles que, possivelmente, estes resultados sugerem que o número de Agnors não é indicativo do prognóstico dos carcinomas espinocelulares de boca, com relação à localização.

De acordo com Vuhahula et al. (1994), existe uma correlação positiva entre o número de Agnors e a localização do tumor. Enquanto que a maioria dos pacientes com tumores localizados no assoalho bucal, retromolar e glândulas salivares apresentavam elevados números de Agnors e um prognóstico fatal, apenas dois dos dez pacientes com lesões no palato possuíam número elevado de Agnors e um prognóstico desfavorável.

Schwint et al. (1994), estudando Agnors em epitélio de revestimento adjacente ao carcinoma espinocelular de boca, relataram

que um aumento no nível de proliferação de um tecido iniciado é a principal alteração nos estágios iniciais da promoção dos tumores que caracterizam as lesões pré cancerizáveis. As alterações dos números de Agnors neste epitélio indicando um maior risco de transformação maligna, sugerem uma possível contribuição da técnica Agnors na detecção de lesões pré-malignas.

A coloração, das regiões organizadoras de nucléolos pela prata expressa os Nors nos Núcleos em forma de alças de DNA. A informação codificada neste DNA é transcrita para o RNA. O significado biológico destes Nors está relacionado às funções fundamentais durante a síntese de proteínas nas células. O número ou tamanho das Nors reflete a atividade proliferativa do tecido neoplásico (Kobayashi et al., 1995).

Kobayashi et al. (1995), demonstraram que a severidade, em relação à displasia de cérvix uterino correlaciona-se bem com a atividade proliferativa representada pela antígeno celular de proliferação nuclear (PCNA) pelo índice mitótico e pelo número de Agnors.

Epivatianos (1995), verificou que o número de Agnors e a porcentagem de células com cinco ou mais Agnors não parece ter o valor discriminativo entre o carcinoma verrucoso e o carcinoma espinocelular bem diferenciado.

Altemani et al. (1995), relataram que o número de Agnors foi de valor limitado para o diagnóstico diferencial, quando estudaram

hiperplasias pseudoepiteliomatosas secundárias às infecções parasitárias crônicas e o carcinoma espinocelular de boca.

Teixeira et al. (1996), relataram que o número de Nors, o tipo e a distribuição da área ocupada pelos Agnors, podem ser úteis para prever o índice de sobrevivência do paciente com vários tipos de neoplasias. Contudo esses autores concluíram que o tamanho das Agnors está mais consistentemente relacionado com o estado das células do que com simples contagem do número de Agnors.

A correlação entre o número de Agnors por Núcleos e a atividade proliferativa tem sido demonstrada em vários relatos, em locais anatômicos variados e em diferentes malignidades (Huang, 1996).

Teixeira et al. (1996), relataram que a expressão de Agnors é um bom indicador para o intervalo livre de recorrência e o prognóstico de carcinoma espinocelular de boca localizado em língua e assoalho bucal.

Kinoshita et al. (1996), avaliaram a relação entre as Agnors e os efeitos histológicos da quimio e radioterapia pré-operatória em carcinomas espinocelulares de boca. Estes autores relataram que quanto menor o número de Nors menores eram os efeitos terapêuticos e que quanto mais elevado o número de Nors melhores eram os efeitos terapêuticos. Os autores sugerem que o número de Agnors reflete a atividade proliferativa do tumor e confirma observações de outros autores

que células na fase proliferativa de seu ciclo celular são altamente sensíveis à quimio e à radioterapia.

Apesar do índice de sobrevida dos pacientes ser influenciados pelo estágio e pela graduação histopatológica da lesão quando do diagnóstico, o sistema TNM, assim como os demais sistemas convencionais de graduação são indicadores muito limitados do prognóstico. Isto se deve à natureza heterogênea dos carcinomas de boca e a complexidade dos aspectos prognósticos (Piffko et al., 1997).

Cada um destes cromossomos possui duas Nors. Deste modo, o número de Nors em células diplóides normais é 20, tipicamente agregadas em um ou dois nucléolos durante a interfase nuclear (Lo Muzio et al., 1997).

Segundo Chatterjee et al. (1997), o número de Nors pode variar de acordo com o número de cromossomos que contem Nors no cariótipo, com a atividade transcricional e com o estágio do ciclo celular.

Piffko et al. (1997), relataram que o custo da reação Agnors é mais baixo do que o da maioria das reações imuno-histoquímicas geralmente utilizadas no diagnóstico de neoplasias.

Várias tentativas têm sido feitas para melhorar a acuracidade do prognóstico e para minimizar a subjetividade das classificações histológicas estabelecidas. Nos últimos anos, a técnica Agnors tem se tornado um método amplamente utilizado na patologia tumoral, principalmente na determinação do prognóstico de neoplasias

malignas. As Agnors refletem as atividades biossintéticas e nucleolares de uma célula servindo como indicadores da rapidez do ciclo celular (Piffko et al., 1997).

Xie et al. (1997), relataram que uma lesão displásica que evolui para carcinoma apresenta um número mais elevado de Agnors do que o número de Agnors das demais displasias. Isto indica que a contagem de Agnors pode auxiliar na determinação do prognóstico de uma lesão displásica.

Segundo Xie et al. (1997), vários estudos têm demonstrado que um número aumentado de Agnors está associado com uma maior agressividade do tumor, uma vez que o número médio de Agnors por Núcleo é maior em lesões malignas quando comparado com lesões benignas, em lesões com alto grau de malignidade e em tumores com um pior prognóstico.

Lo Muzio et al. (1997), afirmaram que o aumento do número, irregularidades na forma e redução nas dimensões das Agnors poderiam ser a expressão de uma alteração nos mecanismos que controlam a proliferação celular e, provavelmente, a diferenciação celular. Desta forma, a análise do número médio de Agnors na mucosa bucal poderia ser um indicativo do grau de malignidade, orientando, deste modo, o prognóstico dos carcinomas espinocelulares de boca.

Uma das principais características de malignidade é uma alteração no índice de proliferação celular. Tem sido sugerido que esta

alteração poderia refletir a agressividade biológica de um dado tumor, exercendo, deste modo, um efeito decisivo no curso clínico de diferentes neoplasias malignas. Contudo, Piffko et al. (1997), afirmaram que a determinação da proliferação, do ponto de vista clínico, é ainda problemática. Segundo estes autores, a análise das Agnors permite uma melhor observação da cinética da proliferação de uma neoplasia, pois fornece uma informação adicional sobre a atividade metabólica da população celular investigada.

Segundo Chiusa et al. (1997), a quantidade de Agnors relaciona-se com atividades de duplicação e proliferação celulares e é um fator prognóstico significativo em várias neoplasias. As Agnors estão associadas com o grau de diferenciação histológica, com o estágio tumoral e com a sobrevida de pacientes com carcinomas de próstata.

Apesar do significado biológico das Agnors ainda ser incerto, Xie et al. (1997), relataram que a relação entre a quantidade de Agnors e a cinética celular tem sido demonstrada em vários estudos. Células em repouso normalmente tem apenas uma única Agnor. A quantidade de Agnors aumenta durante a fase G1 e atinge o nível máximo durante as fases S e G2. Xie et al. (1997), afirmaram que o número de Agnors em qualquer estágio do ciclo de divisão celular parece ser inversamente proporcional ao tempo deste ciclo, ou seja, quanto maior a quantidade de Agnors, mais curto será o ciclo celular.

O valor prognóstico do número de Agnors em neoplasias

é bem reconhecido, apesar de algumas observações contraditórias. O número de Agnors reflete várias características dos tumores, principalmente o nível de proliferação celular, o grau de diferenciação, a presença de metástase e recorrência. Valores elevados de Agnors em carcinomas pobremente diferenciados indicam uma associação com a agressividade e com um prognóstico mais pobre (Chatterjee et al., 1997).

De acordo com Xie et al. (1997), áreas com necrose, com inflamação pronunciada, com destruição artificial ou com evidente queratinização não devem ser incluídas na contagem das Agnors. Todas as estruturas coradas pela prata dentro do Núcleo que apareciam como manchas negras isoladas ou agrupadas eram distinguidas e contadas. Agnors agrupadas e nucléolos com grânulos corados pela prata muito pequenos eram contados com apenas uma única Agnors.

Chiusa et al. (1997), relataram que a contagem das Agnors deve ser realizada nas áreas menos diferenciadas dos tumores.

Há portanto uma grande necessidade de se estudar novos marcadores de prognóstico que possam orientar o clínico na escolha correta da modalidade terapêutica a ser empregada. Além disso esses marcadores são fundamentais para o melhor entendimento da biologia dessas neoplasias (Bryne, 1998).

Portanto, o diagnóstico precoce do câncer é de fundamental importância, visando a maior sobrevida e melhor qualidade de vida dos pacientes (Martin et al., 1998).

Geralmente é aceito que quanto mais precoce for o diagnóstico e o tratamento do câncer bucal mais favorável será o prognóstico (Seetharam & Ramachandran, 1998).

Wolanski et al. (1998), relataram que o uso de métodos de avaliação das Agnors em diagnósticos não tem sido universalmente aceito. Métodos variados de coloração da Agnor demonstrando que é essencial que se desenvolva uma técnica padronizada para que se possa fazer a análise de estudos comparativos.

Wolanski et al. (1998), em seus estudos têm demonstrado alguma correlação entre o número de Agnors por célula e a malignidade. Contudo, um número de superposição entre os casos benignos e malignos tem levado alguns investigadores a questionar o valor diagnóstico deste método. Mais recentemente, tem sido sugerido que a área ocupada pelas Agnors pode ser mais útil na determinação do diagnóstico.

O significado das Agnors dentro de uma célula ainda não foi completamente determinado mas tem sido sugerido que seja um reflexo da proliferação celular, da ploidia celular ou de um aumento na transcrição gênica (Wolanski et al., 1998).

Migaldi et al. (1998), estudando a correlação entre Agnors e o p 120 (antígeno nuclear de 120 KDa detectado em células em proliferação), observaram que valores elevados destes marcadores parecem refletir uma atividade citoproliferativa aumentada e um menor

grau de diferenciação celular. Isto estaria diretamente envolvido com o diagnóstico e um provável prognóstico em Patologia Bucal.

Recentemente, os mais novos marcadores que predizem a agressividade de uma neoplasia, como a cinética celular, os oncogênes, os genes supressores tumorais e o conteúdo de DNA nuclear, têm auxiliado a elucidação do comportamento biológico dos tumores e têm complementado os fatores prognósticos tradicionais. Isto tem se tornado possível graças aos avanços da biologia molecular em vários tipos de neoplasias (Suto et al., 1998).

Suto et al. (1998), afirmaram que as Agnors demonstram o potencial maligno dos tumores, mas não necessariamente preveem a sobrevida dos pacientes com carcinomas de ducto biliar extra – hepático.

Hamakawa et al. (1998), estudando as expressões do pc53, Pcná e Agnors antes e após a quimioterapia em carcinomas espinocelulares de boca, não observaram nenhuma tendência de alteração na contagem de Agnors em resposta à quimioterapia.

Wolanski et al. (1998), sugeriram que a análise das Agnors deve ser realizada através de imagem computadorizada, visando uma melhora na acuracidade e reprodutibilidade obtidas pelo aumento da precisão dos meios de medidas.

De acordo com Suto et al. (1998), a técnica de coloração das Agnors é de fácil manejo e barata, justificando sua grande utilidade em histopatologia.

PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

Os carcinomas espinocelulares de boca apresentam durante a sua evolução alterações substanciais nas células neoplásicas, o número de cromossomos sofre alterações e conseqüentemente o número de Nors também está alterado.

A nossa proposta neste trabalho foi realizar uma análise clínica quantitativa e morfométrica de Nors e Núcleos presentes nas células neoplásicas de carcinomas espinocelulares em diferentes regiões da boca de humanos, pelo método da Agnor, através da técnica computadorizada, utilizando sistema Imagelab 2000, para verificar o comportamento clínico e morfométrico das Nors e Núcleos dos carcinomas.

MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

Foi realizado um levantamento dos casos de carcinomas espinocelulares de boca, diagnosticados clínica e histologicamente no departamento de Diagnóstico e Propedêutica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, no período de 10 anos (1989 a 1998) onde foram selecionados 81 casos de carcinomas espinocelulares de grau I (bem diferenciado) e grau II (moderadamente diferenciado) (Apêndice B).

4.1 Análise clínica

Após a realização do levantamento nos arquivos de lâminas, os dados clínicos referentes aos casos estudados foram obtidos nas requisições de exame anátomo patológico existentes no arquivo do serviço de Patologia (Apêndice A) e nos prontuários dos pacientes do COB (Centro de Oncologia Bucal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba). As informações anotadas sobre os carcinomas foram: sexo, raça, idade, grau de diferenciação do tumor, TNM (Estadiamento do tumor) e se paciente fumava ou bebia.

4.2 Análise histopatológica

Dos 81 casos de carcinomas espinocelulares existentes

nos arquivos do departamento de Diagnóstico e Propedêutica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, 13 casos foram desprezados, pois o conteúdo dos blocos de parafina eram insuficiente para novos cortes e não pôde ser aproveitado. Foram então selecionados 68 casos (Apêndice C) para serem os blocos separados e deles cortes de 3µm de espessura serão retirados para a confecção da técnica Agnor. As lâminas dos 68 casos sendo 12 casos de carcinoma do lábio, 14 casos de carcinoma da língua, 18 casos de carcinoma de assoalho bucal, 12 casos de carcinoma de palato, e 12 casos de carcinomas de retromolar, sendo eles caracterizados como bem diferenciados ou moderadamente diferenciados. As lâminas desses casos foram revisadas para confirmar o grau de diferenciação e se a quantidade de material existente era suficiente para a realização da técnica de Agnor.

4.3 Análise histoquímica

Nas biópsias incluídas em parafina foram realizados cortes seriados de 3µm para serem submetidos à técnica Agnor, descrita por Ploton et al. (1986), com ligeiras modificações propostas por Nunes et al. (1990). Além disso introduzimos outras modificações para adaptar a técnica às nossas condições laboratoriais, a fim de permitir a visualização das Nors. A técnica utilizada neste trabalho foi realizada da seguinte forma:

1. Preparação da solução A (gelatina 2%) em água fervente (não deixar ferver); deixar esfriar bem e adicionar 0,25 ml de ácido fórmico à mistura e guardá-la em local escuro.

2. Preparação da solução B (prata), 5g de nitrato de prata em 10 ml de água destilada, sem saturar. Filtrar a solução e guardar em local escuro.

3. Preparação da câmara escura e úmida, mantendo-a em estufa a 40°C.

4. Os cortes de 3µm selecionados foram desparafinizados, em estufa a 80°C por 5 minutos.

5. Em seguida deu-se continuidade ao processo de desparafinização, retirando-se as lâminas da estufa e colocando-as em 3 banhos de xilol.

6. Após a retirada das lâminas do xilol foi realizado o processo de hidratação, através das passagens sucessivas das lâminas em várias soluções decrescentes de etanol.

7. Após a hidratação, e com as lâminas colocadas ligeiramente inclinadas em um suporte de madeira, foi conduzida a lavagem dos cortes vagorosamente por gotejamento ou jatos suaves com água destilada, usando pipetas ou até pissetas, pelo menos por 10 minutos.

8. Após a lavagem das lâminas misturou-se em câmara escura 1 volume da solução A (gelatina) e 2 volumes da solução B

(prata).

9. Coloração: As lâminas a serem coradas foram colocadas em posição horizontal e sobre os cortes foi gotejada a solução preparada (A+B), cobrindo-os totalmente. Em seguida a câmara úmida foi levada de volta para a estufa a 40°C por 20 minutos. Esse tempo está na dependência da temperatura, pois o calor acelera a reação. No nosso trabalho chegamos à conclusão que a temperatura de 40 graus durante 20 minutos foi ideal para estabelecer uma coloração satisfatória.

10. Após a coloração as lâminas foram retiradas da câmara úmida e colocadas em um suporte de madeira ou de vidro de maneira que ficassem inclinadas para a realização da lavagem vigorosa dos cortes com água destilada fria, por um período de 15 minutos, para retirar todo tipo de precipitação pela prata.

11. Após a lavagem adequada os cortes passaram por um processo de desidratação em série crescente de etanol.

12. Após a desidratação os cortes foram submetidos a um processo de diafanização em dois banhos de xilol:

13. Procedeu-se a montagem com lamínulas de vidro em Permunt^{R*}, que não interfere no processo de coloração.

14. Após a obtenção de todas as lâminas as mesmas foram submetidas a microscopia de luz para verificação da qualidade da coloração.

* Permunt^R – meio de adesão de lamínula com índice de refração de 1,53, transparente, neutro e seca rapidamente.

4.4 Análise quantitativa e morfométrica

Para a análise quantitativa das Nors, após a coloração pela técnica Agnor já descrita, dois campos em cada lâmina foram selecionados de forma aleatória para a contagem das Nors, e as imagens foram obtidas através de um microscópio de luz com objetiva de imersão e aumento final de 1000x, com foco de luz que permitia uma clareza de campo, e melhores condições de contagem e identificação. As imagens do microscópio óptico eram captadas por uma câmera, transferidas para um monitor, que permitia serem arquivadas no computador para posteriormente ter condições de se determinar as análises morfométricas das Nors e Núcleos (Figura 5).

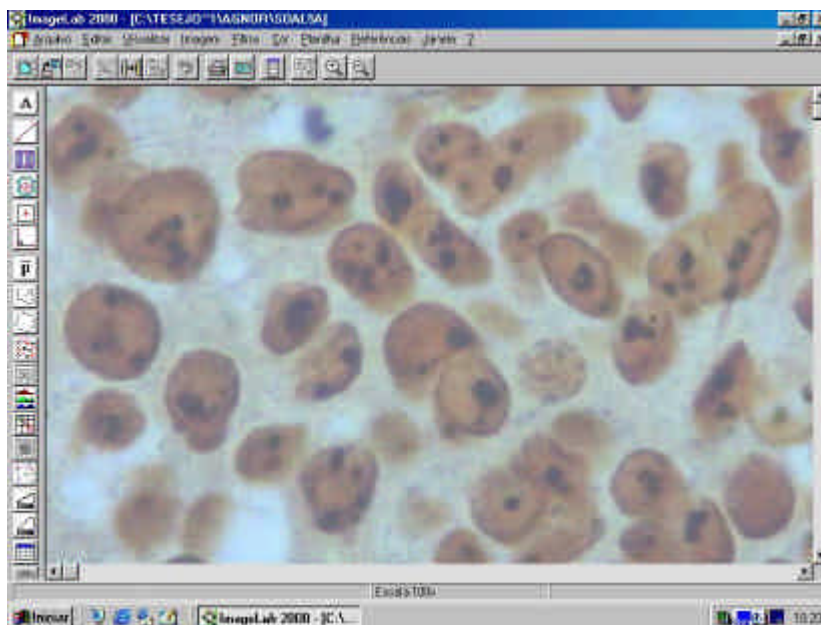


FIGURA 5 - Área de Nors e Núcleos corados pela técnica Agnor para serem analisados (1000x).

Fonte: Arquivo próprio (2002).

A análise morfométrica das Nors e Núcleos (n° , área) foi realizada por um sistema computadorizado que utiliza o software Imagelab 2000. O sistema computadorizado compõe-se de um computador IBM – Personal Computer 300GL que contém o programa Imagelab 2000¹.

As imagens dos campos são obtidas em um microscópio de luz Nikon YS2-T Japan acoplado a um sistema de câmera de captação de imagem modelo CV 730 PDC – 12VDC – 800MA – made in Japan que são transferidas para o monitor do computador (Figura 6).



FIGURA 6 - Equipamento utilizado para análise quantitativa e morfométrica das Nors (Disciplina de Patologia da F.O.P.P. – Unoeste).
Fonte: Arquivo próprio (2002).

O sistema permite que na imagem captada no monitor, passamos de forma bastante cuidadosa, com dispositivo do próprio

¹ O software Imagelab 2000 foi adquirido pela Unoeste, tendo como referência sido desenvolvido pela USP São Paulo.

software circundar todas as estruturas das Nors visualizadas na tela, bem como em uma segunda oportunidade circundar todos os Núcleos, e com isso obter o número de estruturas circundadas, bem como sua área, que ficam registradas em uma planilha de resultados.

Todas as estruturas das Nors e Núcleos apresentadas na tela do monitor foram circundadas por um dispositivo que selecionava as regiões e permitia efetuar o contorno da Nor e Núcleo (Figura 7). Após todos selecionados e circunscritos, pela ativação de um dispositivo do computador era conferido a essas áreas uma coloração azul, caracterizando bem as estruturas selecionadas (ver foto das Nors e Núcleos selecionados), (Figura 8 e Figura 9).



FIGURA 7 - Área das Nors circundadas para análise (1000x).

Fonte: Arquivo próprio (2002).

Os resultados das áreas selecionadas, número de Nors,

Núcleo, área de Nors e Núcleo foram automaticamente calculadas em uma planilha que posteriormente eram selecionadas e impressas para auxiliar na elaboração dos resultados (Ver planilha, Figuras 10 e 11).

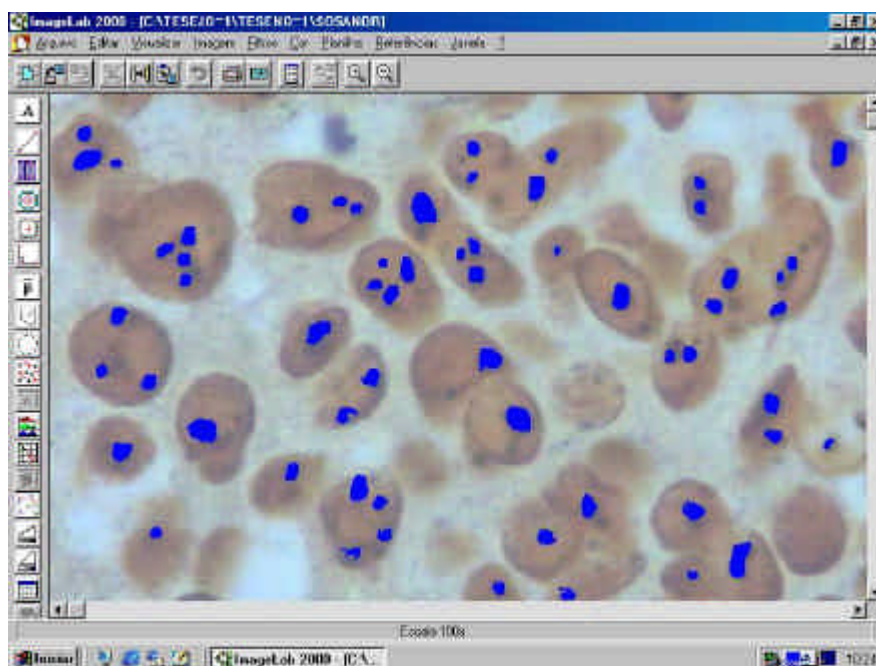


FIGURA 8 - Área das Nors circundadas e selecionadas para análise (1000x).
Fonte: Arquivo próprio (2002).

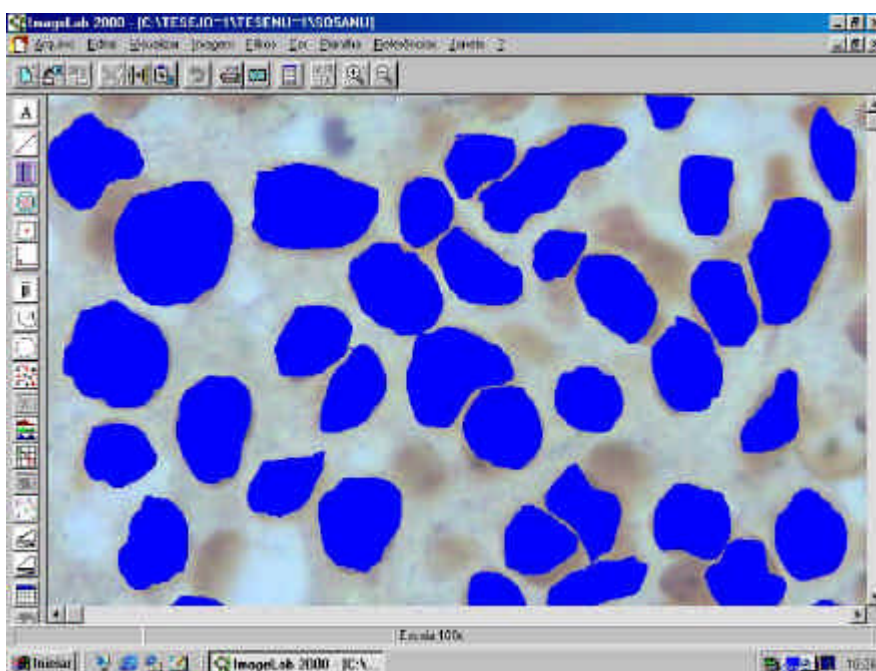


FIGURA 9 - Área dos Núcleos circundadas e selecionadas para análise (1000x).
Fonte: Arquivo próprio (2002).

As planilhas e áreas selecionadas podem ser impressas ou fotografadas para ilustração.

Microsoft Excel - SOSANU.vls

Data: Dia: 12/01/01 Hora: 11:46:56

Região: C:\Programas\Excel\Dados\SOSANU.vls

País: Brasil

Destino: América Latina

Dados Estatísticos:

Região	País	Destino	Quantidade	Valor Médio	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Médio	Valor Máximo	Valor Mínimo
América Latina	Brasil	América Latina	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000
América Latina	Brasil	América Latina	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000

FIGURA 10 - Planilha com os resultados da contagem das Nors.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

Microsoft Excel - SOSANOB.vls

Data: Dia: 12/01/01 Hora: 11:46:56

Região: C:\Programas\Excel\Dados\SOSANOB.vls

País: Brasil

Destino: América Latina

Dados Estatísticos:

Região	País	Destino	Quantidade	Valor Médio	Valor Máximo	Valor Mínimo	Valor Médio	Valor Máximo	Valor Mínimo
América Latina	Brasil	América Latina	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000
América Latina	Brasil	América Latina	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000	1000000

FIGURA 11 - Planilha com os resultados da contagem Núcleos e áreas para compor o trabalho.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

As planilhas foram impressas para auxiliar na proposição do trabalho.

4.5 Análise estatística

O número final das Nors/Núcleo para cada caso foi obtido pela média aritmética (ver Apêndice D) enquanto que os valores de área das Nors e Núcleo foram fornecidos pelo sistema (através de planilhas). Após a análise quantitativa e morfométrica, todos os dados foram tabulados e submetidos à análise estatística.

Para a comparação das médias relativas às variáveis quantitativas foram verificadas as médias das Nors/Núcleos e a relação área Nor/Núcleo submetidas a uma análise de variância (ver Apêndice E, Tabelas 34, 35, 36, 37 e 38). Também foram realizadas análises separadas de cada área distinta do carcinoma da boca. Em todos os casos adotou-se um nível de 5% de significância. Foram determinados ainda e apresentados, intervalos de confiança entre as médias de Nor/Núcleo e as médias da área dos Nor e Núcleos.

RESULTADO

5 RESULTADO

5.1 Aspectos clínicos

Foi feito um levantamento das lâminas do arquivo do Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA UNESP, obtidas de 1989 até 1998, totalizando 81 casos de carcinomas espinocelulares de boca (ver Apêndice B), distribuídos em cinco áreas distintas (Tabela 2), ou seja, quinze casos (18,5%) são carcinomas de lábio inferior, quinze casos (18,5%) carcinomas de língua, vinte e quatro casos (29,7%) carcinomas de assoalho de boca, treze casos (16,0%) carcinomas de palato duro e catorze casos (17,3%) carcinomas de região retromolar (Figura 12).

5.1.1 Carcinomas de lábio

Dos quinze casos de carcinomas de lábios, treze (86,66%) eram do sexo masculino, sendo 100% leucodermas com idades entre 41 a 85 anos, média de 63 anos (Tabelas 3, 4, 5; Figuras 13, 14, 15). Observamos que esses carcinomas de acordo com a ficha de avaliação, segundo a classificação TNM, apresentavam doze (80,0%) T₁NoMo (tumor com 2cm ou menos em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase a distância), dois casos (13,33%) T₂NoMo (tumor com mais de 2cm e até 4cm em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase a distância), um caso (6,67%) T₃NoMo (tumor com

mais de 4cm em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase a distância), (Tabela 6; Figura 16). Todos os carcinomas apresentavam uma graduação histopatológica bem diferenciados (Tabela 7; Figura 17), e observamos que entre os casos de carcinomas nove (60,0%) pacientes eram tabagista e etilistas e os outros 6 (40%) não participavam desses hábitos (Tabelas 8, 9; Figuras 18, 19).

5.1.2 Carcinomas de língua

Nos quinze casos dos carcinomas de língua todos (100%) eram do sexo masculino, catorze (93,33%) pacientes eram leucodermas e apenas um (6,67%) era melanoderma e que suas idades variavam entre 36 a 83 anos com média de 60 anos (Tabelas 3, 4, 5; Figuras 13, 14, 15). Esses carcinomas de língua apresentavam treze casos (86,66%) T₂NoMo (tumor com mais de 2cm e até 4cm em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), dois casos (13,34%) T₂N₁Mo (tumor com mais de 2cm e até 4cm em sua maior dimensão, metástase em um único linfonodo homolateral com 3cm ou menos em sua maior dimensão, e ausência de metástase à distância), (Tabela 6; Figura 16). Dentre esses carcinomas de língua doze (80,0%) eram de acordo com a graduação histopatológica bem diferenciados e três (20,0%) moderadamente diferenciados (Tabelas 7; Figura 17) entre esses pacientes que apresentavam o carcinoma de língua catorze (93,33%) fumavam e todos (100%) consumiam bebida alcoólica (Tabelas

8, 9; Figuras 18, 19).

5.1.3 Carcinomas de assoalho da boca

Entre os vinte e quatro casos de carcinomas de assoalho da boca vinte e três (95,83%) eram do sexo masculino e apenas um (4,17%) era do sexo feminino; dezessete (70,83%) eram leucodermas e sete (29,17%) eram melanodermas, com relação às idades que variavam entre 42 a 72 anos em média de 57 anos (Tabelas 3, 4, 5; Figura 13, 14, 15). Os casos de carcinomas apresentavam um caso (4,16%) T_xNoMo (tumor primário não pode ser avaliado, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), seis casos (25,0%) T₂NoMo (tumor com mais de 2cm e até 4cm em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), seis casos (25,0%) T₃NoMo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), um caso T₃N₁Mo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão, metastase em um único linfonodo homolateral com 3cm ou menos em sua maior dimensão e ausência de metástase à distância), um caso (4,16%) T₃N_{2c}Mo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão, metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais de 6cm em sua maior dimensão e ausência de metástase à distância), quatro casos (16,66%) T₄NoMo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão com invasão das estruturas adjacentes, ausência de metástase em linfonodos

regionais e ausência de metástase a distância), um caso (4,16%) T₄N₁Mx (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão com invasão das estruturas adjacentes, metástase em um único linfonodo homolateral, com 3cm ou menos em sua maior dimensão e a metástase à distância não pode ser avaliada), dois casos (8,33%) T₄N₁Mo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão com invasão das estruturas adjacentes, metástase em um único linfonodo homolateral, com 3cm ou menos em sua maior dimensão e ausência de metástase a distância), dois casos (8,33%) T₄N_{2c}Mo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão com invasão das estruturas adjacentes, metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais de 6cm em sua maior dimensão, e ausência de metástase à distância), (Tabela 6; Figura 16). Dentre esses vinte e quatro carcinomas, vinte deles (83,33%) eram de acordo com a graduação histopatológica, bem diferenciados e os outros quatro (16,66%) moderadamente diferenciados (Tabela 7; Figura 17) e ainda observamos que dentre esses pacientes, vinte deles (83,33%) fumavam e dezoito (75,0) deles consumiam bebida alcoólica, quatro (16,66%) não fumavam e nem bebiam e apenas dois (8,33%) fumavam mas não consumiam bebida alcoólica (Tabelas 8, 9; Figura 18, 19).

5.1.4 Carcinomas de palato duro

Dos trezes casos de carcinomas de palato duro, onze (84,62%) eram do sexo masculino e dois (15,38%) do sexo feminino; dez (76,92%) eram leucodermas e três (23,08%) eram melanodermas, e as

idades variavam entre 30 e 81 anos com idade média de 55 anos (Tabelas 3, 4, 5; Figuras 13, 14, 15). Os casos de carcinomas apresentavam um caso (7,69%) T₁NoMo (tumor com 2cm ou menos em sua maior dimensão, ausência de metástase linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), um (7,69%) T₂NoMo (tumor com mais de 2cm e até 4cm em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), seis (46,16%) T₃NoMo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), um (7,69%) T₃N_{2c}Mx (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão, metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais de 6cm em sua maior dimensão e ausência de metástase à distância), três (23,08%) T₄NoMo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão com invasão das estruturas adjacentes, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), um (7,69%) T₄N_{2c}Mx (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão com invasão das estruturas adjacentes, metástase em linfonodos bilaterais e contralaterais, nenhum deles com mais de 6cm em sua maior dimensão, ausência de metástase à distância), (Tabela 6; Figura 16). Dentre os treze carcinomas, onze deles (84,62%), de acordo com a graduação histopatológica, eram bem diferenciados e os outros dois (15,38%) eram moderadamente diferenciados (Tabela 7; Figura 17) e observamos também que esses pacientes, doze deles (92,31%) fumavam e onze

(84,62%) consumiam bebida alcoólica, apenas um (7,69%) não fumava e dois (15,38%) deles não bebiam (Tabelas 8, 9; Figuras 18, 19).

5.1.5 Carcinomas de região retromolar

Dos catorzes casos de carcinomas espinocelulares da região retromolar, doze (85,71%) eram do sexo masculino e dois (14,28%) do sexo feminino; doze (85,71%) eram leucodermas e dois (14,28%) melanodermas, e as idades entre eles variavam de 41 a 93 anos, com média de 67 anos (Tabelas 3, 4, 5; Figuras 13, 14, 15). Os casos de carcinomas apresentavam cinco (35,71%) T₂NoMo (tumor com mais de 2cm e até 4cm em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), três (21,42%) T₃NoMo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), um (7,15%) T₃N₂bMo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão, metástase em linfonodos homolaterais múltiplos nenhum deles com mais de 6cm em sua maior dimensão e ausência de metástase à distância), quatro (28,57%) T₄NoMo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão com invasão das estruturas adjacentes, ausência de metástase em linfonodos regionais e ausência de metástase à distância), um (7,15%) T₄N₁Mo (tumor com mais de 4cm em sua maior dimensão com invasão das estruturas adjacentes, metástase em um único linfonodo homolateral, com 3cm ou menos em sua maior dimensão e ausência de metástase a distância), (Tabela 6; Figura 16). Os carcinomas de região

retromolar apresentavam uma graduação histopatológica, sendo onze (78,57%) bem diferenciados e três (21,43%) eram moderadamente diferenciados (Tabela 7; Figura 17). E ainda observamos que onze (78,57%) dos pacientes fumavam e dez (71,42%) bebiam, apenas três (21,43%) não fumavam e quatro deles (28,58 %) deles não consumiam bebida alcoólica (Tabelas 8, 9; Figuras 18, 19).

Tabela 2 – Dados representativos dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao local anatômico

Local Anatômico	Frequência	%
Lábio	15	18,5
Língua	15	18,5
Assoalho	24	29,7
Palato	13	16,0
Retromolar	14	17,3
Total	81	100

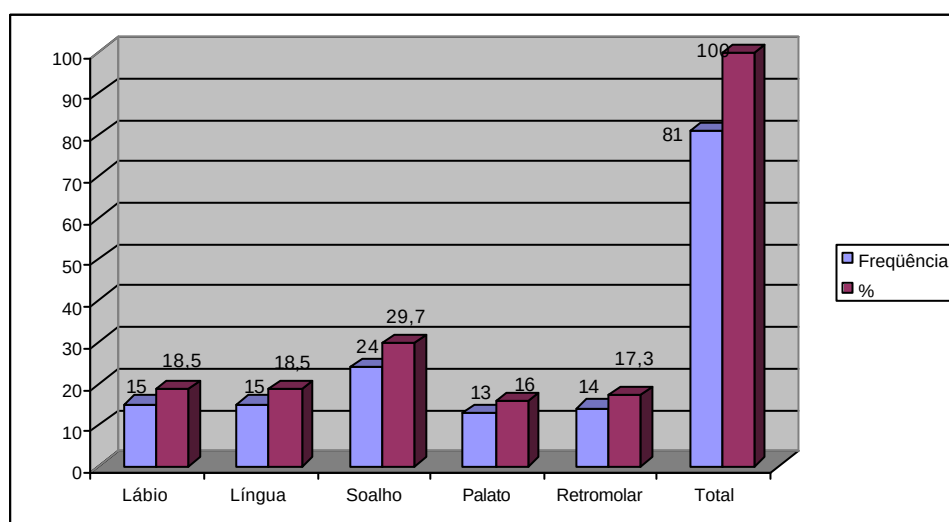


FIGURA 12 - Dados representativos dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao local anatômico.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

Tabela 3 – Distribuição dos casos Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao sexo

Sexo	Frequência	%
Masculino	74	91,3
Feminino	07	8,7
Total	81	100

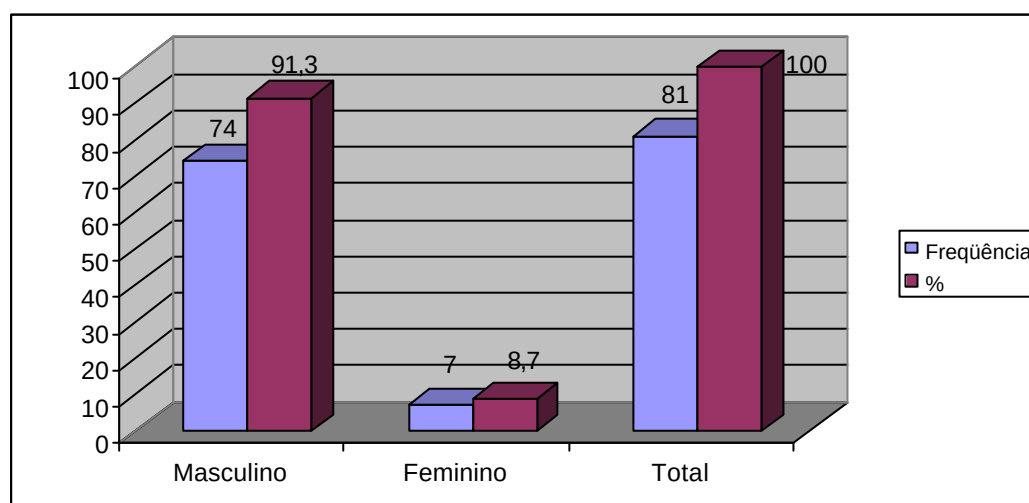


FIGURA 13 - Distribuição dos casos Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao sexo.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

Tabela 4 – Distribuição dos casos Carcinoma Espinocelular bucal em relação à idade

Faixa Etária	Frequência	%
30-40	05	6,1
41-50	19	23,5
51-60	26	32,1
61-70	13	16,1
71-80	14	17,3
81-90	04	4,9
Total	81	100,0

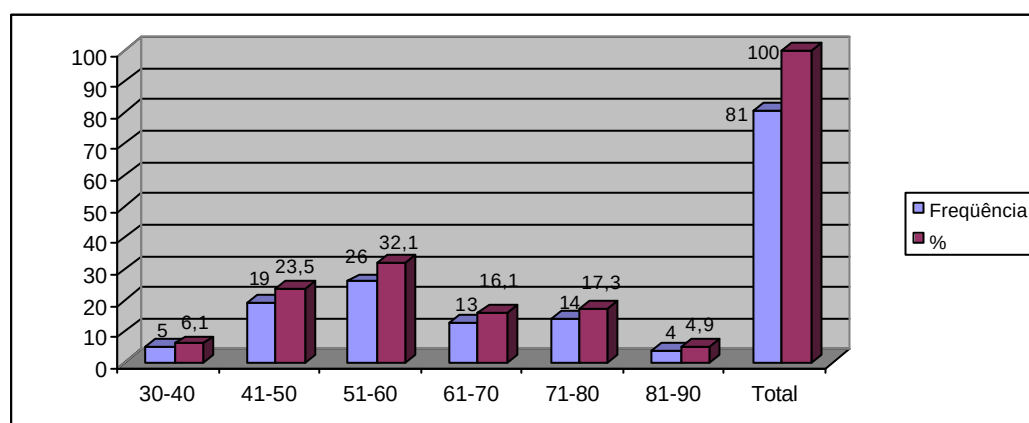


FIGURA 14 - Distribuição dos casos Carcinoma Espinocelular bucal em relação à idade.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

Tabela 5 – Distribuição dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação à raça

Raça	Frequência	%
Leucoderma	68	84,0
Melanoderma	13	13,5
Total	81	100

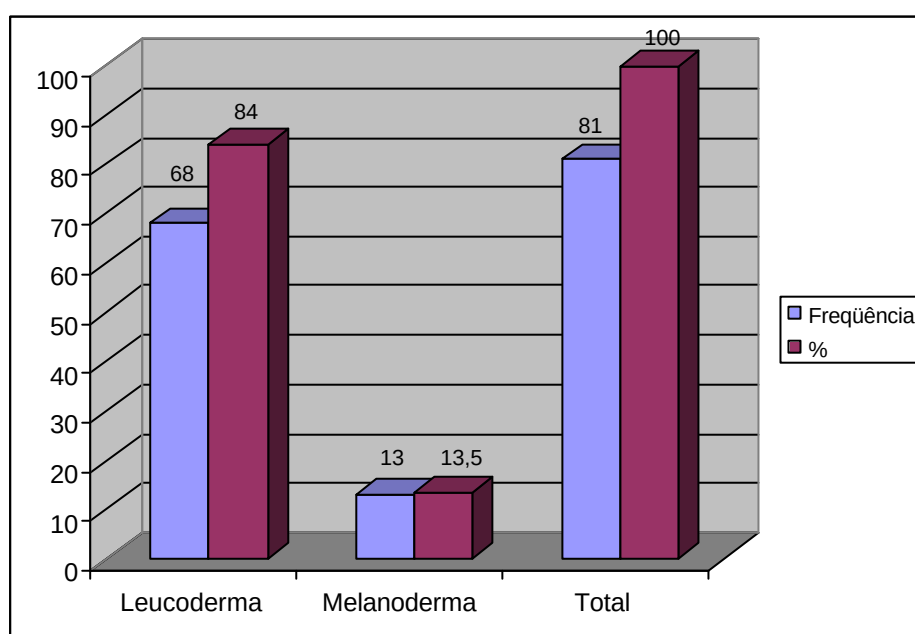


FIGURA 15 - Distribuição dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação à raça.

Fonte: Arquivo próprio (2002).

Tabela 6 – Distribuição dos casos Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao estadiamento clínico TNM

TNM	Lábio	Língua	Assoalho	Palato	Retromolar
T ₁ Nomo	12			01	05
T ₂ Nomo	02	13	06	01	
T ₃ Nomo	01		06	06	03
T ₃ N ₁ mo		02	01		
T ₃ N ₂ bmo					01
T ₃ N ₂ cmo			01		
T ₃ N ₂ cmx				01	
T ₄ Nomo			04	03	04
T ₄ N ₁ mo			02		01
T ₄ N ₁ mx			01		
T ₄ N ₂ mo			02		
T ₄ N ₂ cmx				01	
TxNomo			01		
Total	15	15	24	13	14

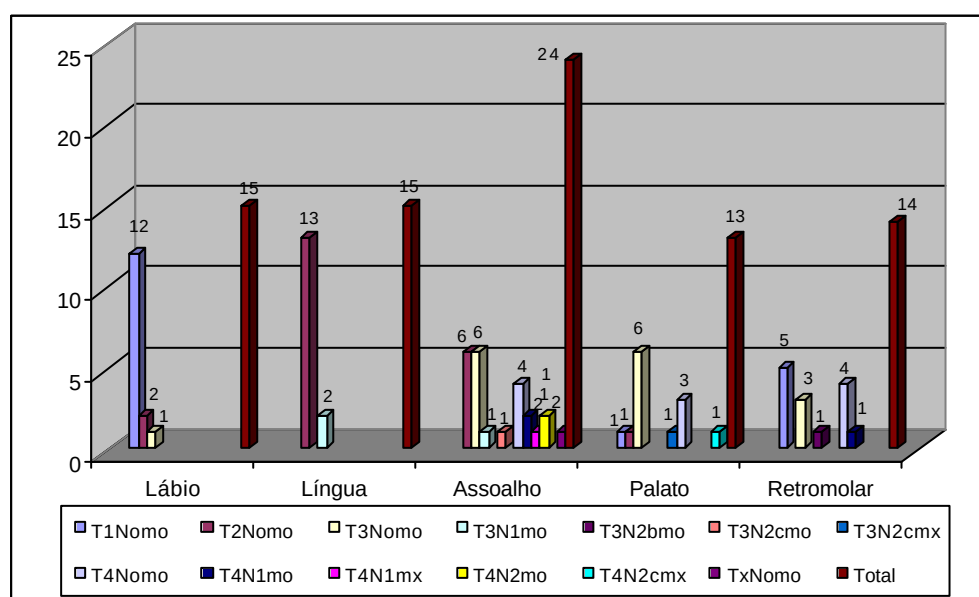


FIGURA 16 - Distribuição dos casos Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao estadiamento clínico TNM.

Fonte: Arquivo próprio (2002).

Tabela 7 – Distribuição dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao grau de diferenciação

Grau de Diferenciação	Lábio		Língua		Assoalho		Palato		Retromolar	
	Local	%	Local	%	Local	%	Local	%	Local	%
Bem diferenciado	15	100	12	80	20	83	11	84	11	79
Moderadamente diferenciado	-	-	03	20	04	17	02	16	03	21
Total	15	100	15	100	24	100	13	100	14	100

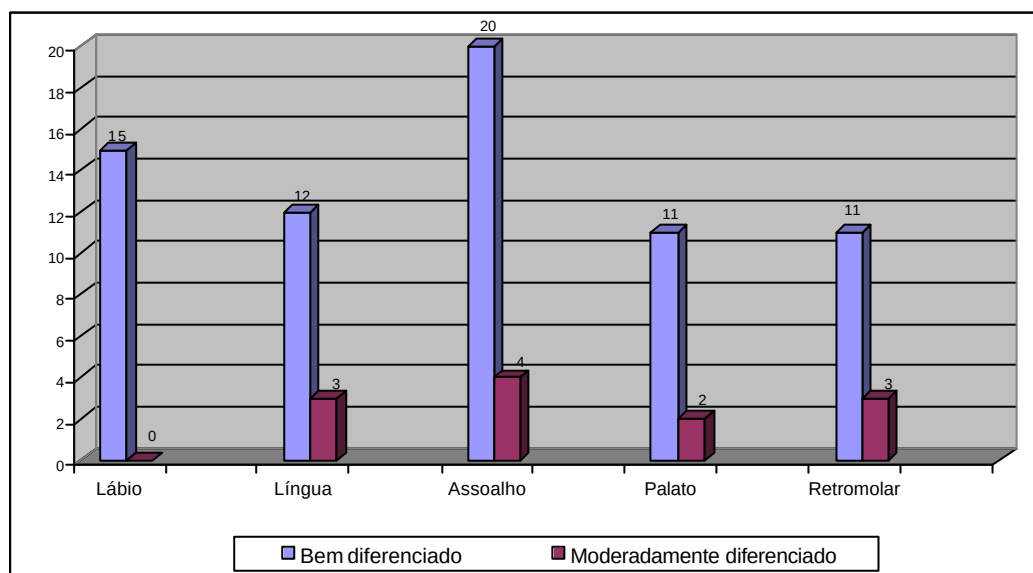


FIGURA 17 - Distribuição dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao grau de diferenciação.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

Tabela 8 – Distribuição dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao tabagismo

Tabagismo	Frequência	%
Tabagista	66	81,5
Não tabagista	15	18,5
Total	81	100

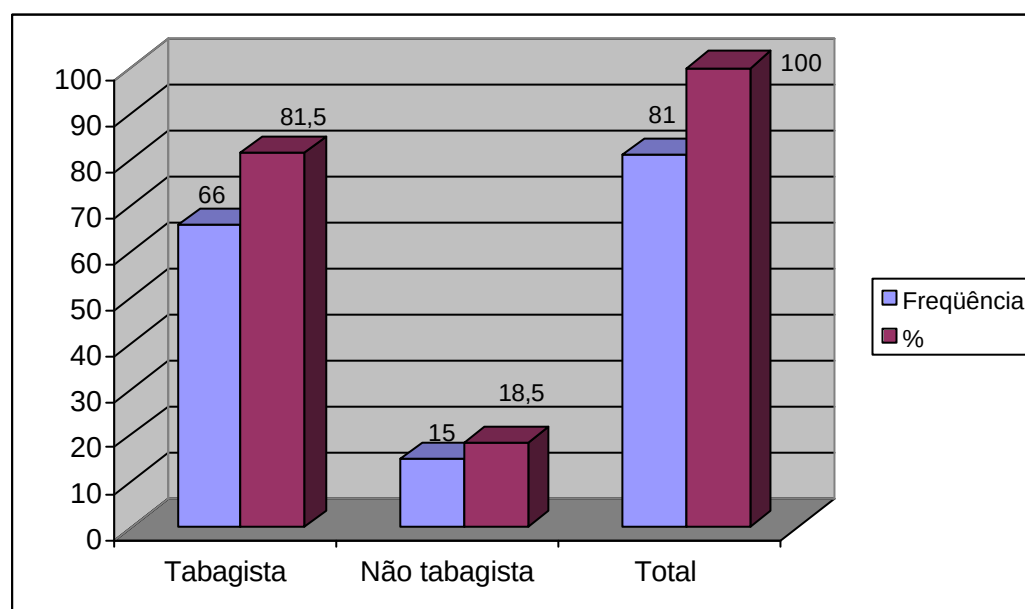


FIGURA 18 - Distribuição dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao tabagismo.

Fonte: Arquivo próprio (2002).

Tabela 9 – Distribuição dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao etilismo

Etilismo	Frequência	%
Etilista	62	76,5
Não Etilista	19	23,5
Total	81	100,0

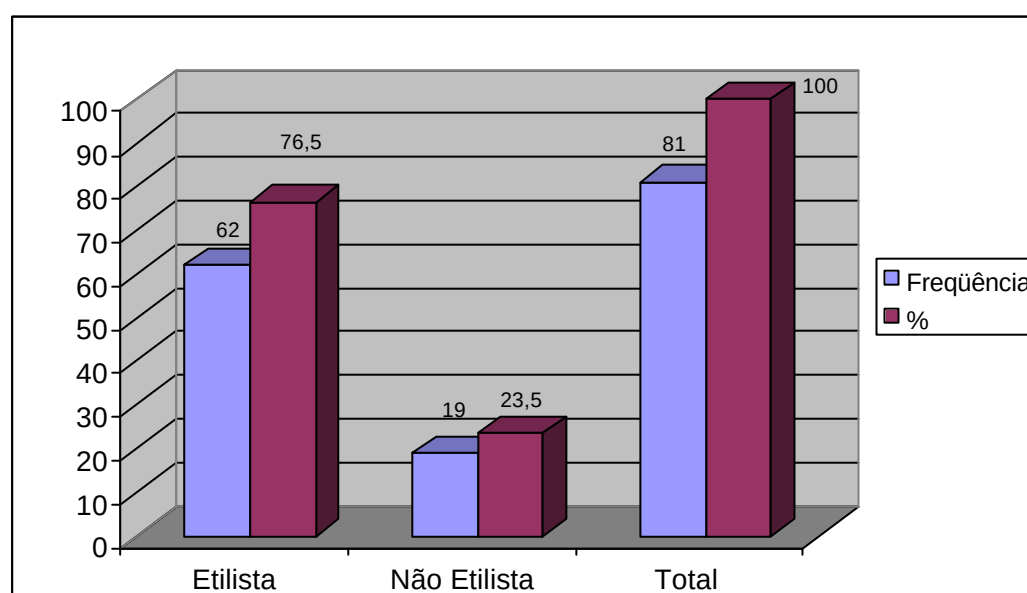


FIGURA 19 - Distribuição dos casos de Carcinoma Espinocelular bucal em relação ao etilismo.

Fonte: Arquivo próprio (2002).

5.2 Aspectos histopatológicos

As lâminas das biopsias dos carcinomas espinocelulares selecionados para coloração da técnica Agnor, foram revisadas para confirmação do resultado em H/E e verificação do campo que seria selecionado para a contagem das Nors (Figura 20).

Após isso os blocos de parafina foram separados e de cada um deles foram retirados 2 cortes de 3 μ m e 2 lâminas eram confeccionadas para a contagem das Nors.

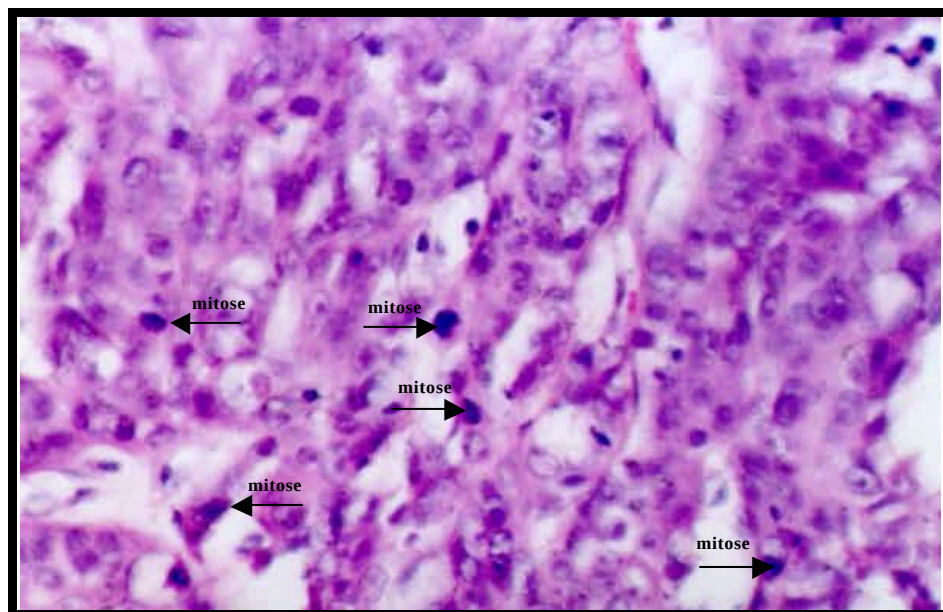


FIGURA 20 - Aspectos histopatológicos do carcinoma espinocelular moderadamente diferenciado, apresentando mitoses atípicas (H/E) 400x.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

5.3 *Análise quantitativa e morfométrica das regiões organizadoras de nucléolos*

Nas lâminas estudadas, as regiões organizadoras de nucléolos coradas pela prata (Agnors), foram visualizadas como pontos negros ou castanhos, localizados no interior dos Núcleos (Figura 21).

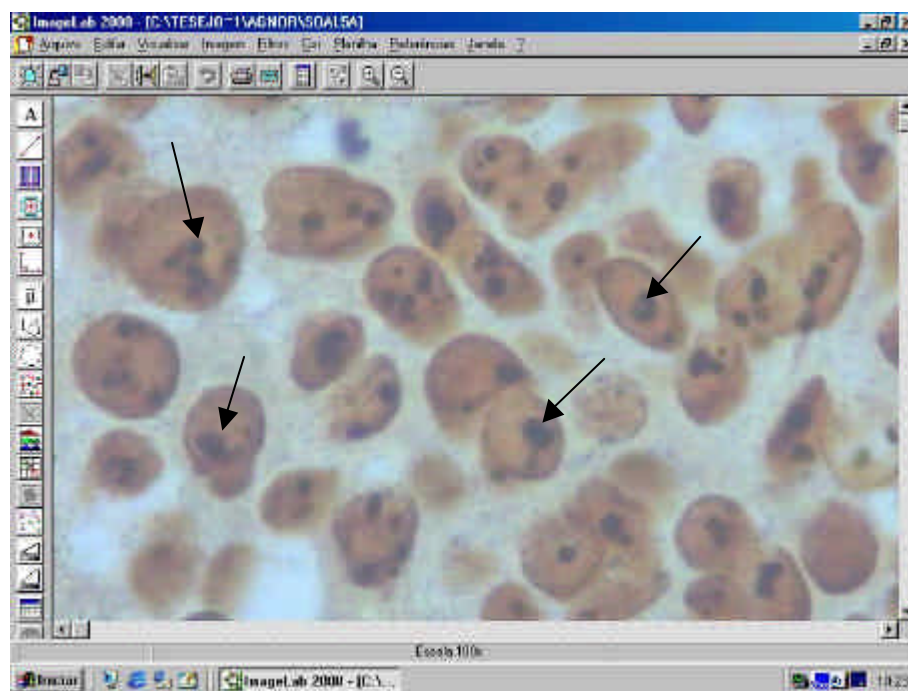


Figura 21 – Área com células coradas pela Agnor indicando pontos escuros ou castanhos (Nors) no interior do Núcleo (1000x).
Fonte: Arquivo próprio (2002).

Os Núcleos eram verificados como estruturas maiores de coloração amarelada, redondas ou ovóides (Figura 22).

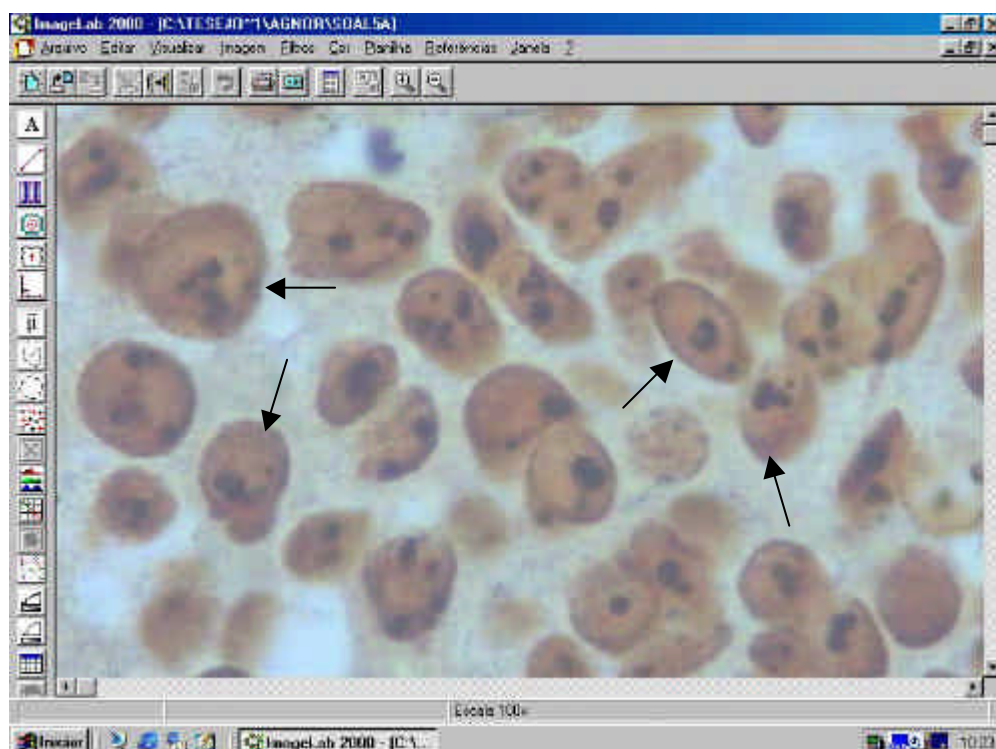


FIGURA 22 – Área com células coradas pela Agnor indicando os Núcleos (1000x).
Fonte: Arquivo próprio (2002).

Apresentamos a seguir, os dados que foram obtidos da análise dessas regiões organizadoras nucleolares (Nors), de células dos casos de carcinoma de várias áreas distintas da boca.

Para análise das Nors e Núcleos de todos os casos estudados, selecionamos duas áreas em cada lâmina das biópsias para captação da imagem pela câmera. Esta imagem era projetada na tela do computador onde eram contadas todos as Nors e Núcleos presentes no campo.

Para a contagem dos números de Nors, área da Nors, número de Núcleo e área do Núcleo, selecionados no (Apêndice D) apresentou os seguintes resultados: Lábio (Tabelas 24 e 25), Língua (Tabelas 26 e 27), Assoalho (Tabelas 28 e 29), Palato (Tabelas 30 e 31) e

Retromolar (Tabela 32 e 33).

Após a contagem do número de Nors e Núcleo e área da Nors e Núcleo os resultados foram suficientes para a obtenção do número médio de Nors, área média das Nors, número médio dos Núcleos e área média dos Núcleos. Esses resultados constam no Apêndice E: Lábio (Tabela 34), Língua (Tabela 35), Assoalho (Tabela 36), Palato (Tabela 37), Retromolar (Tabela 38). Esses cálculos serão usados para a obtenção do número médio de Nors, Núcleos e média da área das Nors e Núcleos.

O primeiro parâmetro a ser verificado entre esses resultados é o número de Nors/Núcleo, que é classicamente considerado na literatura. Em nossos resultados observamos, que para os carcinomas de lábio 58,33% das células apresentavam 1 a 1,99 Nor/Núcleo e 41,67% das células menos de 1 Nor/Núcleo. Na região de língua 14,29% das células apresentavam de 2 a 2,99 Nor/Núcleo e 71,42% das células de 1 a 1,99 Nor/Núcleo e 14,29% com menos de 1 Nor/Núcleo. Na região de assoalho 22,22% das células apresentavam 2 a 2,99 Nor/Núcleo e 55,56% das células de 1 a 1,99 Nor/Núcleo e 22,22% com menos de 1 Nor/Núcleo. Na região de Palato 33,33% das células apresentavam de 2 a 2,99 Nor/Núcleo e 66,66% de 1 a 1,99 Nor/Núcleo. E na região retromolar 8,33% das células apresentavam mais de três Nor/Núcleo e 25,0% de células apresentavam de 2 a 2,99 Nor/Núcleo e 66,67% de células 1 a 1,99 Nor/Núcleo (Tabela 10; Figura 23).

Tabela 10 - Resultados do número médio do Nors pelo número médio de Núcleo

	Lábio	Língua	Assoalho	Palato	Retromolar
1	0,89	1,80	1,10	1,84	1,58
2	0,89	1,13	1,76	2,42	1,42
3	1,18	2,15	0,88	1,85	2,72
4	0,53	0,90	1,05	2,46	1,53
5	0,98	1,30	1,20	1,95	1,84
6	1,01	1,35	1,61	1,49	1,28
7	1,42	1,75	1,11	1,13	3,23
8	1,72	1,09	0,72	2,17	1,86
9	0,52	1,65	2,52	2,16	2,09
10	1,34	2,18	1,22	1,76	2,84
11	1,45	0,74	0,86	1,84	1,13
12	1,94	1,51	2,35	1,49	1,62
13	-	1,0	2,72	-	-
14	-	1,05	1,90	-	-
15	-	-	1,88	-	-
16	-	-	0,90	-	-
17	-	-	2,48	-	-
18	-	-	1,50	-	-

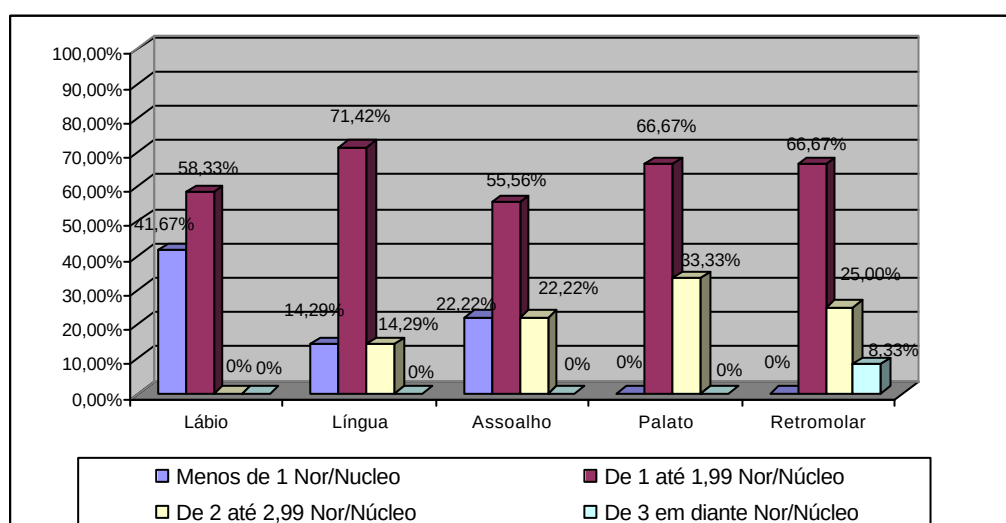


FIGURA 23 - Resultados do número médio do Nors pelo número médio de Núcleo.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

Outros parâmetros morfométricos foram analisados nas áreas de carcinomas de boca, ou seja, área (μm^2) dos Nors e área (μm^2) dos Núcleos.

A avaliação dos dados quantitativos e morfométricos, obtidos das cinco áreas em suas respectivas regiões foi realizada através da análise da média do número de Nor, média da área Nor, média do número de Núcleo e da média da área do Núcleo, sendo que esses resultados estão apresentados na Tabela 11; Figura 24.

Tabela 11 – Número médio de Nors, número médio de Núcleo, média da área das Nors e média da área dos Núcleos de cada área da boca

Região	Média número Nor	Média número Núcleo	Média do número Nor/Núcleo	Média área Nor (μm^2)	Média área Núcleo (μm^2)
Lábio	28,25	25,08	1,12	3,49	28,50
Língua	27,57	19,67	1,40	2,46	41,93
Assoalho	41,72	27,72	1,50	2,50	36,82
Palato	44,87	24,62	1,82	2,15	43,76
Retro	49,25	26,45	1,86	2,00	42,15
Média geral	38,33	24,70	1,55	2,52	38,6

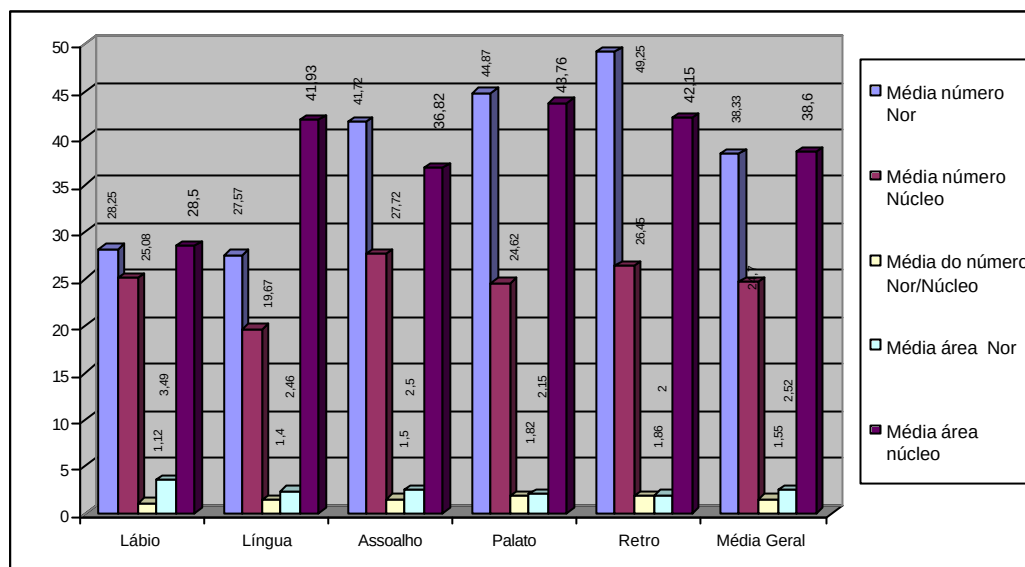


FIGURA 24 - Número médio de Nor, número médio de Núcleo, média da área dos Nor e média da área dos Núcleos de cada área da boca.
Fonte: Arquivo próprio (2002).

5.4 Avaliação dos dados estatísticos

Foram utilizados para as comparações entre número médio e área média de Nors e Núcleos nas diversas regiões da boca, uma Análise de Variância (ANOVA), considerando um experimento completamente aleatorizado e não balanceado (Gomes, 1985; Werkema & Aguiar, 1996).

Neste estudo sempre apresentaremos um **quadro descritivo**, contendo medidas como (N) o número de observações, (Média) a média aritmética dos valores observados, (Mediana) o valor mediano observado, (Desvio Padrão) o desvio padrão observado e os valores mínimos (Mínimo) e máximos (Máximo) observados, o **quadro da ANOVA**, que vai indicar diferenças significativas entre os Fatores

(Tratamentos) estudados e o **quadro de comparação múltipla**, onde se encontram as diferenças significativas entre os fatores. Neste caso os termos fatores e tratamentos possuem o mesmo significado: as diferentes regiões da boca em estudo (Tabela 12).

Tabela 12 - Quadro Descritivo com relação ao número de Núcleos segundo os fatores

Fatores	N	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Lábio	12	25,08	22,75	7,30	17,00	39,00
Língua	14	19,68	19,00	3,33	15,50	26,00
Assoalho	18	27,72	28,00	4,55	21,50	34,50
Palato	12	24,63	21,75	4,41	19,00	33,50
Retromolar	12	26,46	28,00	6,29	16,00	33,00

Com base nesta primeira etapa, verificamos diferenças entre as médias para as várias regiões da boca, no entanto estes dados são provenientes de uma amostra, não podemos afirmar nada sem o uso de testes estatísticos. Assim, utilizando a ANOVA temos os seguintes resultados (Tabela 13).

Tabela 13 - Quadro da ANOVA com relação ao número médio de Núcleos

Fontes de Variação	GL	SS	MS	F	P
Tratamentos	4	555,2	138,8	4,75	0,002
Resíduo	63	1839,1	29,2		
Total	67	2394,3			

Considerando o quadro da ANOVA acima, podemos rejeitar a condição de que os tratamentos são iguais ($p=0,002 < 0,05$), ou seja, existe diferença entre os tratamentos a um nível de significância abaixo de 0,05.

Agora precisamos de outro teste para identificar onde estão as diferenças. Utilizando o teste de Tukey (Gomes, 1985), conseguimos identificar onde estão as principais diferenças significativas.

Tabela 14 - Contrastes Significativos (Teste de Tukey)

Contraste	P
Língua * Assoalho	0,001
Língua * Retromolar	0,018

Foram identificadas diferenças significativas entre os valores na Língua X Assoalho e Língua X Retromolar (Tabela 14).

Tabela 15 - Quadro Descritivo com relação à área média dos Núcleos segundo os fatores

Fatores	N	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Lábio	12	28,5	28,14	4,09	21,42	34,12
Língua	14	41,93	39,07	9,01	31,72	57,22
Assoalho	18	36,82	35,84	11,77	21,52	53,18
Palato	12	43,76	46,58	13,35	23,52	61,15
Retromolar	12	42,15	41,74	8,54	31,8	56,05

Tabela 16 - Quadro da ANOVA com relação à área dos Núcleos

Fontes de Variação	GL	SS	MS	F	P
Tratamentos	4	1908	477	4,72	0,002
Resíduo	63	6358	101		
Total	67	8266			

Considerando o quadro da ANOVA acima, podemos rejeitar a condição de que os tratamentos são iguais ($p=0,002 < 0,05$), ou seja, existe diferença entre os tratamentos a um nível de significância abaixo de 0,05.

Tabela 17 - Contrastes Significativos (Teste de Tukey)

Contraste	P
Lábio * Língua	0,01
Lábio * Palato	0,004
Lábio * Retromolar	0,012

A diferença foi detectada entre Líbio x Língua, Líbio x Palato e Líbio e Retromolar.

Tabela 18 - Quadro Descritivo com relação ao número de Nors

Fatores	N	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Lábio	12	28,25	29,25	6,58	12,5	38,5
Língua	14	27,57	26,75	9,91	14	47,5
Assoalho	18	41,72	39,5	16,69	23,5	86
Palato	12	44,88	45,75	6,98	36	55,5
Retromolar	12	49,25	48,75	15,98	33,5	88,5

Tabela 19 - Quadro da ANOVA com relação ao número de Nors

Fontes de Variação	GL	SS	MS	F	P
Tratamentos	4	4992	1248	8	0,00003
Resíduo	63	9833	156		
Total	67	14824			

Considerando o quadro da ANOVA acima, podemos rejeitar a condição de que os tratamentos são iguais ($p=0.00003 < 0.05$), ou seja, existe diferença entre os tratamentos a um nível de significância abaixo de 0,05.

Tabela 20 - Contrastes Significativos (Teste de Tukey)

Contraste	P
Lábio * Assoalho	0,04
Lábio * Palato	0,015
Lábio * Retromolar	0,001
Língua * Assoalho	0,019
Língua * Palato	0,007
Língua * Retromolar	0,000

A diferença foi detectada entre Líbio x Assoalho, Líbio x Palato, Líbio x Retromolar, Língua x Assoalho, Língua x Palato e Língua x Retromolar (Tabela 20).

Tabela 21 - Quadro Descritivo com relação à área média do Nors

Fatores	N	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
Lábio	12	3,493	3,16	0,999	2,35	5,18
Língua	14	2,469	2,43	0,813	1,4	4,02
Assoalho	18	2,509	2,67	0,925	1,18	3,72
Palato	12	2,155	1,985	0,842	1,18	3,34
Retromolar	12	2,007	2,11	0,361	1,35	2,63

Tabela 22 - Quadro da ANOVA com relação à área média do Nors

Fontes de Variação	GL	SS	MS	F	P
Tratamentos	4	16,156	4,039	5,87	0,000442
Resíduo	63	43,34	0,688		
Total	67	59,496			

Considerando o quadro da ANOVA acima, podemos rejeitar a condição de que os tratamentos são iguais ($p=0,000442 < 0,05$), ou seja, existe diferença entre os tratamentos a um nível de significância abaixo de 0,05.

Tabela 23 - Contrastes Significativos (Teste de Tukey)

Contraste	P
Lábio * Língua	0,04
Lábio * Assoalho	0,015
Lábio * Palato	0,001
Lábio * Retromolar	0,019

A diferença foi detectada entre Líbio x Língua, Líbio x Assoalho, Líbio x Palato e Líbio x Retromolar (Tabela 23).

5.5 Análise de associação linear

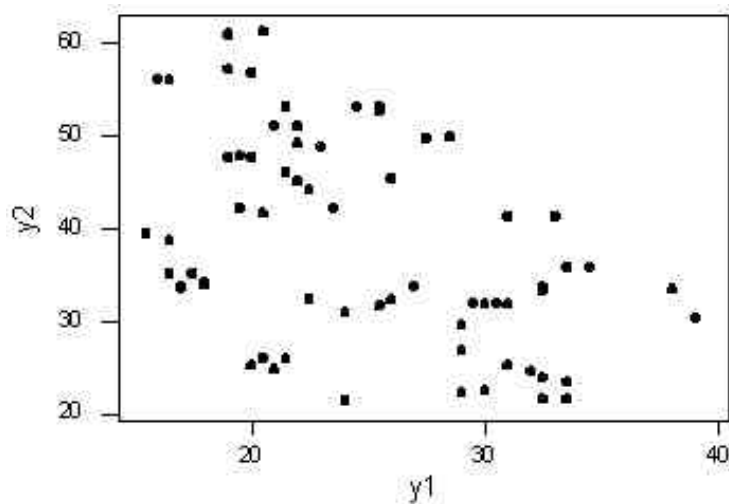


FIGURA 25 - A existência de uma relação linear entre o número médio de Núcleos (y1) e a área média do Núcleo (y2).

Fonte: Arquivo próprio (2002).

Correlação de Person = -0,453, com P-Value = 0,000.

Portanto podemos afirmar que existe uma relação linear negativa significativa, ou seja, quanto maior o número de Núcleos, menor será a área.

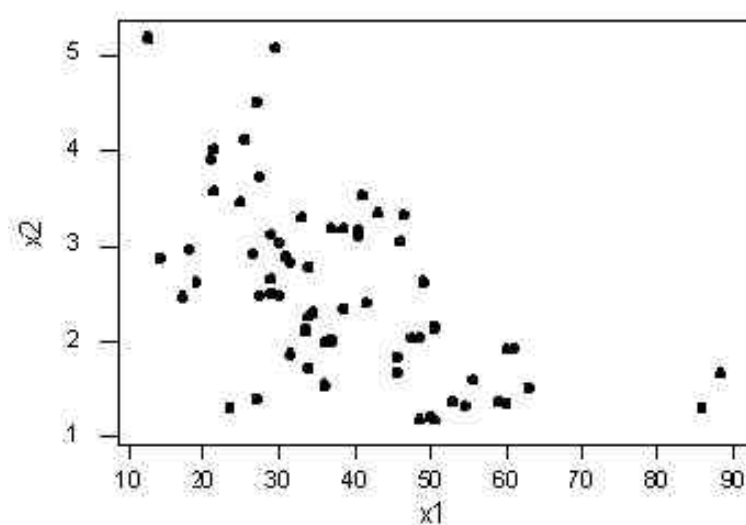


FIGURA 26 - A existência de uma relação linear entre o número de Nors (x1) e a área média do Nor (x2).

Fonte: Arquivo próprio (2002).

Correlação de Pearson = -0,572, com P-Value = 0,000.

Portanto podemos afirmar que existe uma relação linear negativa significativa, ou seja, quanto maior o número de Nors, menor será a área.

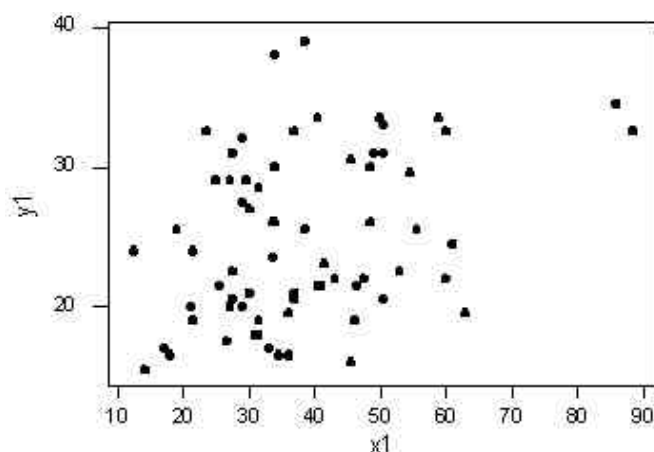


FIGURA 27 - A existência de uma relação linear entre o número médio de Nors (x_1) e o número médio de Núcleos (y_1).

Fonte: Arquivo próprio (2002).

Correlação de Pearson = 0,347, com P-Value = 0,004.

Portanto podemos afirmar que existe uma relação linear positiva significativa, ou seja, quanto maior o número médio de Nors, maior é o número médio de Núcleos.

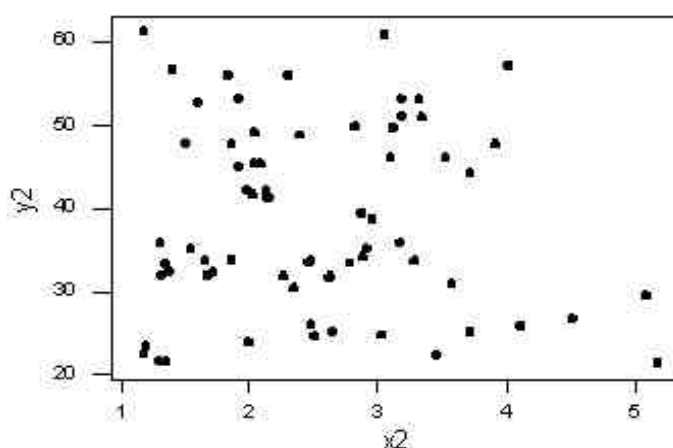


FIGURA 28 - A existência de uma relação linear entre a área média de Nor (x_2) e a área média do Núcleo (y_2).

Fonte: Arquivo próprio (2002).

Correlação de Pearson= -0,053, com P-Value = 0,667.

Portanto não podemos afirmar que existe uma relação linear significativa, entre a área do Nor e a área do Núcleo.

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O carcinoma espinocelular é a neoplasia maligna mais freqüente dos tecidos bucais. Cerca de 95% dos tumores que acometem a boca são carcinomas espinocelulares. No Brasil a prevalência é bastante alta chegando em algumas regiões a ocupar o 3.º lugar entre todos os tumores malignos do organismo dos indivíduos do sexo masculino. Sabemos que é de fundamental importância estarmos sempre procurando, elucidação das características relacionadas ao carcinoma espinocelular de boca. Portanto o nosso trabalho em sua parte clínica procurou estabelecer uma comparação dos seus resultados com a literatura para verificar modificações que possam ocorrer com esse tumor maligno na boca com o decorrer do tempo. Desta forma, neste trabalho, analisamos as características clínicas, aspectos histopatológicos e proliferação celular dos carcinomas de boca em áreas distintas, na tentativa de obter informações adicionais que possam servir de parâmetro para o tratamento, estabelecimento de um diagnóstico precoce e determinar condições mais favoráveis de prognóstico.

Com relação aos aspectos clínicos foram observadas várias características dos carcinomas, e pudemos confirmar alguns resultados encontrados na literatura .

Em nosso trabalho, ao analisar 81 casos de carcinoma de boca, notamos que o maior número de casos encontrados foi no assoalho bucal, em torno de 24 casos (29,7%) contrariando a literatura que refere à

língua como o local de maior freqüência dos carcinomas espinocelulares (Parise Júnior, 2000; Bertotto et al., 1997), ou o lábio inferior citado em alguns trabalhos (Regezi et al., 1989).

Nossos resultados revelaram uma distribuição dos carcinomas espinocelulares com relação ao sexo em torno de 74 casos (91%) para o sexo masculino, resultados semelhantes aos da literatura (Sampaio et al., 1981).

A idade dos pacientes variou entre 30 a 90 anos, com uma incidência maior na faixa etária entre 50 e 60 anos. Sendo o carcinoma espinocelular uma doença de média e avançada idade; apenas cinco pacientes estavam entre 30 e 40 anos. Também na experiência diária temos encontrado casos nesta faixa etária. Com relação à raça observamos que as pessoas de raça branca (Leucodermas) eram a mais atingida com 64 casos (84%) dados semelhantes aos resultados de Sampaio et al. (1981).

Em nosso estudo ao avaliarmos a distribuição dos carcinomas espinocelulares bucais com relação ao grau de diferenciação observamos 69 casos (85%) bem diferenciados e 12 casos (15%) moderadamente diferenciados, o que vai de encontro com a literatura (De Melo et al., 2001; Fonseca, 1981).

Os casos de carcinomas espinocelulares observados por nós coincidem com os dados publicados pela UICC de 1998 onde verificamos serem a maioria dos carcinomas espinocelulares T₁NoMo 18

casos (22%), T₂NoMo com 22 casos (27%) e T₃noMo 16 casos (20%). Apesar da avaliação tumoral ser estabelecida pelo sistema T.N.M., que colabora muito no tratamento e prognóstico do tumor, sabemos que fatores “não anatômicos” como condições imunológicas, nutricionais, estados mórbidos, impacto negativo no paciente e outros influenciam no prognóstico (Parise Júnior, 2000).

Em relação ao Carcinoma Espinocelular bucal os fatores de riscos estão voltados mais aos hábitos sociais do tabagismo e etilismo, que são sem dúvida nenhuma de maior importância na etiologia dessa neoplasia. Os nossos resultados mostraram que 66 casos (81,5%) foram evidenciados em fumantes e 62 casos (76,5%) em etilistas. Evidenciamos que o câncer bucal em relação ao tabagismo e etilismo, de forma isolada, possuem uma porcentagem aproximada, e quando o consumo é concomitante desses dois hábitos sociais há um aumento dos casos. Verificamos aproximadamente 69 casos (85%), dados compatíveis com a literatura (Lockart et al., 1998; Parise Júnior, 2000).

Após as análises, dos aspectos clínicos e epidemiológicos, dos casos de carcinomas espinocelulares bucal, podemos verificar pelos nossos resultados que o perfil de nossos pacientes foram de homens (91%), raça branca (84%), com idade entre 50 a 60 anos (35%) com grau de diferenciação (85%) na maioria bem diferenciados, com estadiamento clínico (TNM) mais freqüentes de T₂NoMo (27%), com hábitos como tabagismo e etilismo (85%). Todos

esses resultados estão de acordo com a literatura. O assoalho bucal foi em nossos resultados a região anatômica mais acometida, contrariando os dados da literatura.

A técnica Agnor foi desenvolvida por Goodpasture & Bloon em 1975 e posteriormente Howell & Black em 1980 fizeram modificações com a finalidade de simplificá-la. Outros autores como (Ploton et al., 1986; Nunes et al., 1990), usaram esta técnica com a finalidade de melhorar cada vez mais o seu emprego dentro dos laboratórios de anatomia patológica, e também como um marcador de proliferação celular. Essa técnica tem auxiliado cada vez mais, na distinção entre células benignas e malignas, sendo que alguns autores relatam que em células malignas, portanto com maior atividade proliferativa, as regiões organizadoras de nucléolos estão em maior número, são de menor tamanho e de forma irregular, enquanto que nas células benignas estão em menor número, são de maior tamanho e formato mais regular (Crocker & Skilbeck, 1987; Underwood & Giri, 1988; Derenzini, 1999; Sano et al., 1991; Trerè et al., 1991; Cabrini et al., 1992; Magalhães, 1994).

A evidenciação dos depósitos de prata foram confirmados por Ploton et al 1986 que fizeram uma adaptação para os tecidos humanos incluídos em parafina. Através da experiência na realização desta técnica, fica evidente que ela se aplica muito bem às lesões epiteliais fixadas em formol que levam a resultados mais adequados.

Vários fatores podem interferir nos resultados obtidos com seu uso, como tempo de coloração e espessura dos cortes, sendo sugerido por vários autores a sua padronização. Por isso, utilizamos o método proposto por (Ploton, 1986; Nunes et al., 1990), com algumas modificações para as nossas condições laboratoriais, como utilização de sais de Prata de boa qualidade. Após a preparação da Prata deve ser mantida em local escuro. O bálsamo para a adesão da lamínula deve ser do tipo “Permout”, pois outro tipo interfere na coloração provocando descoloração. O tempo de coloração deve ser padronizado pois a temperatura interfere na coloração, nosso tempo foi de 20 minutos em estufa a 40°C, para permitir uma boa coloração e a visualização das Nors.

Com relação aos resultados obtidos dos números de Nors e Núcleo das células presentes nos carcinomas espinocelulares analisados, verificamos que o número de Nor/Núcleo em média nas áreas estudadas foram de 16,2% de células com menos de 1 Nor/Núcleo, 63,2% de células com 1 a 2 Nor/Núcleo, 19,2% de células com 2 a 3 Nor/Núcleo e 1,4% de células acima de 3 Nor/Núcleo. Apesar dessas variações a frequência maior de células foi entre 1 a 2 Nor/Núcleo e 2 a 3 Nor/Núcleo, sendo que a literatura mostra números maiores da relação Nor/Núcleo (Sano et al., 1991; Schwint et al., 1994; Epivatianos, 1994; Cabrini et al., 1992). De acordo com os estudos de Crocker (1990) e Warnakulasuriya & Johnson (1993), células em interfase apresentam 1 a 2 Nors/Núcleo e células em mitose mais de 3 Nors/Núcleo. Assim

podemos considerar que as células presentes nos carcinomas deste estudo, não estavam em grande atividade mitótica e suas atividades proliferativas não eram tão intensas, apesar de que uma porcentagem menor de células (1,4%) apresentarem uma maior relação de Nors/Núcleo compatível com os trabalhos da literatura, considerando-se também que a maioria dos nossos casos de carcinomas estudados era bem diferenciado ou moderadamente diferenciado.

Orrel et al. (1991), relataram que alguns autores contam apenas as Agnors extra nucleolares e o nucléolo como uma única Agnors, enquanto outros contam ambas as Agnors extra e intra nucleolares. Em muitos relatos o método de contagem não está claramente definido. Existem variações com o aumento utilizado quando as Agnors estão sendo contadas. A maioria utiliza uma lente de imersão com aumento de 100 vezes, ao passo que outros têm empregado objetivas com aumento de 40 vezes sem imersão. Em aumentos inferiores, as Agnors intra-nucleolares nem sempre são bem visualizadas. Há também uma ampla variação na quantidade de Núcleos que devem ser contados, sendo mais freqüente de 50 a 200 Núcleos.

Em nosso trabalho verificamos estatisticamente uma variação significativa entre os números de Nors, comprovadas pelos dados estatísticos descritos nas Tabela 18, 19 e 20, pelo menos entre o lábio x língua, lábio x palato, lábio x retromolar. Porém, fica difícil justificar essa variação, apesar dos procedimentos da contagem das Agnors serem

feitos da mesma forma para todas as áreas da boca.

Verificamos uma variação significativa no número de Núcleos, comprovadas nas Tabelas 12, 13 e 14 da análise estatística entre língua x assoalho e língua x retromolar, não justificada, apesar dos procedimentos executados serem da mesma forma.

Nossos dados estatísticos revelaram que existe uma variação significativa entre os resultados das áreas dos Nors e áreas dos Núcleos, mostrados nas Tabelas 21, 22 e 23 e Tabelas 15, 16 e 17 dos resultados estatísticos. Em uma análise geral podemos verificar que existe uma variação significativa nos resultados de língua e lábio de todos os dados analisados em comparação com as outras áreas, situação que não foi possível justificar, apesar dos procedimentos da contagem serem iguais para todas as áreas avaliadas da boca.

As análise estatística do nosso trabalho, demonstrou que a área das Nors apresentavam uma variação significativa entre o Carcinoma Espinocelular do lábio e as outras áreas (Tabelas 21, 22 e 23). Também verificamos que a média da área das Nors corresponde a $2,52 \mu\text{m}^2$, valor este que pode contribuir para a verificação mais consistente relacionada ao estado proliferativo das células. Apesar de não estar relatado na metodologia deste trabalho, realizamos cálculo da média de Nors em áreas das extremidades das lâminas onde apresentavam células normais e verificamos, apesar de poucos casos, que a área média das Nors nessa região eram de $1,8 \mu\text{m}^2$ bem menor que das regiões onde o

carcinoma ficava bem caracterizado. Portanto estes dados podem contribuir para a verificação mais consistente relacionada ao estado proliferativo das células, possibilidade esta também relatada por Teixeira et al. (1996). Esses aspectos relacionados à área das NORS também são relatados nos trabalhos de Lo Mucio 1997, o qual afirma que: aumento do número, irregularidade na forma e redução da área dos AgNOR, podem ser provocadas por alterações nos mecanismos que controlam a proliferação celular. Não conseguimos verificar e comprovar esta variação. Para tal deveríamos usar epitélio normal e desenvolver uma técnica especial computadorizada para comparação desses dados como sugere Wolanski et al. (1998).

Com relação às áreas dos Núcleos, observadas e comparadas estaticamente, verificamos variações significantes entre o carcinoma do lábio x língua, lábio x palato, lábio x retromolar, mostradas nas Tabelas 15, 16 e 17. Notamos que essas áreas correspondem a $38,6 \mu\text{m}^2$ e os Núcleos analisados em áreas da periferia da lesão onde apresentavam células normais, a área do Núcleo era de $28,8 \mu\text{m}^2$, sendo portanto um Núcleo menor que aqueles das regiões dos carcinomas. Podemos neste caso sugerir que os Núcleos maiores nas áreas de carcinomas devem estar relacionados ao aumento de atividade proliferativa das células, que caracteriza as anormalidades dos carcinomas, pois sabe-se que em lesões malignas coradas ao H/E sempre há Núcleos maiores caracterizando a perda de relação

Núcleo/Citoplasma, o que contribui para o diagnóstico de neoplasia maligna. Mesmo assim fica difícil estabelecer uma relação entre as áreas dos Núcleos e as áreas das Nors, para afirmar que elas colaboram nas alterações das células, que mudam seu comportamento e que possam dar origem ao carcinoma espinocelular.

Em nosso estudo verificamos que na região de lábio 58,33% das células apresentavam entre 1 e 2 Nors/Núcleo. Nos carcinomas de língua a maioria (71,42%) das células continham entre 1 a 2 Nors/Núcleo. Na região de assoalho bucal 55,56% das células apresentam de 1 a 2 Nors/Núcleo e na região de palato também verificamos 66,67% das células com 1 a 2 Nors/Núcleo e na área de retromolar 66,67% das células continham 1 a 2 Nors/Núcleo. Em menor porcentagem visualizamos células com 2 a 3 Nors/Núcleo em língua (14,29%), assoalho bucal (22,22%), palato (33,33%) e região retromolar (25%) e ainda em região retromolar (8,33%) de células com mais de 3 Nors/Núcleo (Figura 23). De acordo com os trabalhos de Crocker (1990) e Warnakulasuriya & Johnson (1993), as células na interfase apresentam 1 a 2 Nors/Núcleo e células em mitose mais de 3 Nors/Núcleo. Se assim considerarmos, podemos afirmar que parte das células de várias áreas deste estudo não estavam em mitose, apresentavam sim uma atividade proliferativa intensa, como inferem Cabrini et al. (1992) e Lo Muzio et al. (1997), e outras áreas continham mitose, como na região retromolar.

Considerando que os carcinomas espinocelulares são as

lesões malignas mais freqüentes na boca, estes resultados discutidos por nós podem vir a colaborar na utilização desta técnica do Agnor, para que possamos ter mais um instrumento, na identificação dos resultados dessas lesões malignas, mesmo que alguns trabalhos apresentem resultados controversos. Esta técnica pode auxiliar no diagnóstico para as biópsias incisionais de tecido bucal, com suspeita de malignidade.

Considerando ainda a impossibilidade de explicação para alguns resultados obtidos neste estudo, parecem necessário outros trabalhos neste campo com a utilização da técnica Agnor, para elucidar tais dúvidas, agilizar o método empregado bem como aplicá-la com maior freqüência nos laboratórios de Anatomia Patológica Bucal.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Considerando a metodologia que disponibilizamos para a realização deste trabalho e as condições experimentais que foi desenvolvido concluímos que:

- Os achados clínicos obtidos em nosso estudo estão dentro de padrões estabelecidos pela literatura, exceto com relação à prevalência em assoalho de boca.
- A relação do número de Nors/Núcleo apresentou variações estatísticas significantes entre as áreas, mas mesmo assim caracterizou grau de malignidade das lesões, sendo que apresentam áreas com células em atividade proliferativa intensa e áreas com atividades de mitose.
- A área das Nors e dos Núcleos das varias regiões analisadas, apresentavam uma variação significativa entre si, porém, não pudemos estabelecer uma relação confiável entre esses dois parâmetros, e sua relação com grau de malignidade ou avaliação de prognóstico.
- Outros trabalhos direcionados à técnica de Agnor, com uso do sistema computadorizado, devem ser realizados para elucidar pontos que ainda não estão esclarecidos para facilitar o emprego da técnica e com isso proporcionar condições para melhorar os resultados e correlacionar o comportamento clínico e histopatológico dos carcinomas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, S. et al. Nucleolar organizer regions in precancerous and cancerous lesions of the bronchus. *Cancer*, v.67, n.2, p.472-5, 1991.

AGUIAR, M. C. F. *Estudo comparativo das proteínas p53, PCNA, Ki-67 e das regiões organizadoras nucleolares (Nors) no epitélio de revestimento da mucosa próximo ao carcinoma epidermóide de boca*. São Paulo, 1996. 109p. Tese (Doutorado em Patologia Bucal) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.

ALHO, O. P. et al. Lip cancer in Northern Finland: changing incidence and clinical characteristics. *J. Oral Pathol. Med.*, v.29, n.7, p.299-302, 2000.

ALTEMANI, A. M. A. et al. Nucleolar organizer region (Nors) in pseudocarcinomatous hyperplasia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa. *Rev. Paul. Med.*, v.113, n.1, p.693-7, 1995.

AYRES, J. G., CROCKER, J. G., SKILBECK, N. Q. Differentiation of malignant from normal and reactive mesothelial cells the argyrophil technique for nucleolar organiser region associated proteins. *Thorax*, v.43, n.5, p.366-70, 1988.

BABU, K. A., VERMA, R. S. Structural and functional aspects of nucleolar organizer regions (Nors) of human chromosomes. *Int. Rev. Cytol.*, v.94, p.151-76, 1985.

BERNSTEIN, S. C. et al. The many faces of squamous cell carcinoma. *Dermatol. Surg.*, v.22, p.243-54, 1996.

- BERTOTTO, J. C., ZANETTINI, I., COELHO, C. P. Carcinoma epidermóide de palato mole: apresentação de um caso. *Stomatos.*, n.4, p.51-4, 1997.
- BRODERS, A. C. Squamous cell epithelioma of the lip-a study of five hundred and thirty seven cases. *Journal of American Medical Association*, v.74, n.10, p.656-664, 1920.
- BRYNE, M. Is the invasive front of an oral carcinoma the most important area for prognostication? *Oral Dis.*, v.4, n.2, p.70-7, 1998.
- BUYS, C. H., OSINGA, J. Abundance of protein-bound sulfphidryl and disulfide groups at chromosomal nucleolus organizing regions: a cytochemical study on the selective silver staining of Nors. *Chromosoma*, v.77, n1, p.1-11, 1980.
- BUYS, C. H., OSINGA, J. Selective staining of the same set of nucleolar phosphoproteins by silver and Giemsa. A combined biochemical and cytochemical study on staining of Nors. *Chromosoma*, v.89, n.5, p.387-96, 1984.
- CABRINI, R. L. et al. Morphometric study of nucleolar organizer regions in humam oral normal mucosa, papilloma and squamous cell carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.*, v.21, n.6, p.275-9, 1992.
- CAMPBELL, J. P. Surgical management of lip carcinoma. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.56, n.8, p.955-61, 1998.
- CROCKER, J. Nucleolar organizer regions. *Curr. Top. Pathol.*, v.82, p.91-149, 1990.

CROCKER, J., NAR, P. Nucleolar organizer region in lymphomas. *J. Pathol.*, v.151, n.2, p.111-8, 1987.

CROCKER, J., SKILBECK, N. Nucleolar organizer region associated proteins in cutaneous melanotic lesions: a quantitative study. *J. Clin. Pathol.*, v.40, n.8, p. 885-9, 1987.

CRUZ, I. B. et al. Age-dependence of human papillomavirus DNA presence in oral squamous cell carcinomas. *Eur. J. Cancer B. Oral Oncol.*, v.32B, n.1, p. 55-62, 1996.

CHATTERJEE, R. et al. Evaluation of argyrophilic nucleolar organizer regions (Agnors) in oral carcinomas in relation to human papillomavirus infection and cytogenetics. *J. Oral Pathol. Med.*, v.26, n.7, p.310-4, 1997.

CHIUSA, L. et al. High and low risk prostate carcinoma determined by histologic grade and proliferative activity. *Cancer*, v.79, n.10, p.1956-63, 1997.

DARNE, J. F. et al. Nucleolar organizer regions in adenocarcinoma in situ and invasive adenocarcinoma of the cervix. *J. Clin. Pathol.*, v.43, n.8 p.657-60, 1990.

De MELO, G. M. et al. Risk factors for postoperative complications in oral cancer and their prognostic implications. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, v.127, n.7, p.828-33, 2001.

DERENZINI, M. The Agnors. *Mícron.*, v.31, n.6, p.117-20, 2000.

- DERENZINI, M. et al. Interphasic nucleolar organizer region distribution as a diagnostic parameter to differentiate benign from malignant epithelial tumors of human intestine. *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.*, v.54, n.6, p.334-40, 1988.
- DERENZINI, M., SIRRI, V., THERE, D. Nucleolar organizer regions in tumor cells. *Cancer J.*, v.7, n.2, p.1-9, 1999.
- EGAN, M. J., CROCKER, J. Nucleolar organizer regions in cutaneous tumours. *J. Pathol.*, v.154, n.3, p.247-53, 1988.
- EGAN, M. J., CROCKER, J. Nucleolar organizer regions in pathology. *Br. J. Cancer*, v.65, n.1, p.1-7, 1992.
- EPIVATIANOS, A. Argyrophilic nucleolar organizer region associated proteins in human oral normal mucosa, verrucous carcinoma, and squamous cell carcinoma. *Ann. Dent.*, v.54, n.1-2, p.25-9, 1995.
- EPIVATIANOS, A. Evalution of nucleolar organizer region associated proteins in oral squamous cell carcinoma. *Ann. Dent.*, v.53, n.1, p.33-6, 1994.
- FONSECA, A. da. *Nevos e tumores da pele: dermatoses cancerizáveis*. 1.ed. São Paulo: Atheneu, p.135-41, 1981.
- GOODPASTURE, C., BLOOM, S. E. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma*, v.53, n.1, p.37-50, 1975.

- HALL, P. A. et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J. Pathol.*, v.162, n.4, p.285-294, 1990.
- HAMAKAWA, H. et al. Histological effects and predictive biomarkers of TPP induction chemotherapy for oral carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.*, v.27, n.2, p.87-94, 1998.
- HANSEN, A., OSTERGARD, B. Agnor count in intraendometrial neoplasia. *J. Clin. Pathol.*, v.43, n.6, p.518-9, 1990.
- HIRSCH, S. M. et al. Nucleolar organizer regions in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope*, v.102, n.1, p.39-44, 1992.
- HOWELL, W.M., BLACK, D. A. Controlled silver-straining of nucleous organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, v.36, p.1014-5, 1980.
- HOZÁK, P., ZATSEPINA, O., VASILYEVA, I., CHENTSOV, Y. An electron microscopic study of nucleolus-organizing regions at some stages of the cell cycle (G0 period, G2 period, mitosis). *Biol. Cell.*, v.57, n.3, p.197-205, 1986.
- HUANG, D. T. Effects of preoperatives radiation and hemoterapy on Agnors counts in squamous cell carcinoma. *J. of Oral and Maxillofacial Surgery*, v.54, n.3, p.307-308, 1996.
- KAMEL, H. M. H., KIRK, J., TONER, P. G. Ultrastructural pathology of the nucleus. *Curr. Top. Pathol.*, v.82, p.17-89, 1990.

- KHAN, M. A. et al. Comparison flow cytometric analysis and nucleolar organizer region enumeration in archival oral premalignant lesions. *J. Oral Pathol. Med.*, v.22, n.6, p.257-262, 1993.
- KINOSHITA, Y. et al. Effects of preoperative radiation and chemotherapy on Agnor counts in oral squamous cell carcinoma. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.54, n.3, p.304-7, 1996.
- KOBAYASHI, I. et al. The proliferative activity in oral epithelial dysplasia analysed by proliferating cell nuclear antigen immunostaining and argyrophilic nucleolar organizer region staining. *Hum. Pathol.*, v.26, n.8, p.133-9, 1995.
- KOWALSKI, L. P. (org.) et al. *Prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer bucal*. São Paulo: Frontis, 1999. 568p.
- La VECCHIA, C. et al. Epidemiology and prevention of oral cancer. *Oral Oncol.*, v.33, n.5, p.302-12, 1997.
- LO MUZIO, L. et al. Morphometric study of nucleolar organizer regions (Agnors) in HPV-associated precancerous lesions and microinvasive carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncol.*, v.33, n.4, p.247-59, 1997.
- LOCKHART, P. B., NORRIS JÚNIOR., C. M., PULLIAM, C. Dental factors in the genesis of squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncol.*, v.34, n.2, p.133-9, 1998.
- MAGALHÃES, M. H. C. G. Utilização da técnica da Agnor em patologia óssea. (Tese Doutorado) – Fac. Odontologia da USP – Patologia Bucal. São Paulo, 1994.

MARKS, R. Squamous cell carcinoma. *Lancet*, v.347, n.9003, p.35-8, 1996.

MARTIN, I. C., KERAVALA, C. J., REED, M. The application of toluidine blue as a diagnostic adjunct in the detection of epithelial dysplasia. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.85, n.4, p.444-6, 1998.

MATOLCSY, A. et al. Nucleolar organizer regions of megakaryocytes in chronic myeloproliferative disorders. *Virchows Archiv. Pathol. Anat. Histopathol.*, v.420, n.5, p.441-5, 1992.

MATSUMURA, K. et al. The nucleolar organizer region associated protein (Agnors) in salivary gland tumours. *In. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.18, n.2, p.76-8, 1989.

MIGALDI, M. et al. p120 and Agnor nucleolar protein expression: a comparison with nuclear proliferation markers in oral pathology. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v.85, n.2, p.189-96, 1998.

MORGAN, D. W. et al. Salivary gland tumours studied by means of the Agnor technique. *Histopathology*, v.13, n.5, p.553-9, 1988.

MORITA, M. et al. Prognostic significance of argyrophilic nucleolar organizer regions in esophageal carcinoma. *Cancer Res.*, v.51, n.19, p.5339-41, 1991.

MOURAD, W. A. et al. Argyrophilic nucleolar organizer regions in breast carcinoma: correlation with DNA flow cytometry, histopathology and lymph node status. *Cancer*, v.69, n.7, p.1739-44, 1992.

NUNES, F. D., PINTO JUNIOR, D. S., ARAÚJO, N. S., ARAÚJO, V. C.
Estudo morfológico e otimização da técnica Agnor. In: REUNIÃO DA
SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS,
1990. São Paulo. *Anais*. 1990.

NUNES, F. D., *Leucoplasia bucal: estudo morfológico, imunohistoquímico
e histoquímico*. São Paulo, 1991. 85p. (Tese Doutorado) Faculdade
Odontologia da Universidade de São Paulo.

OFNER, D., et al. Silver stained nucleolar organizer region proteins
(Agnors) as a predictor of prognosis in colonic cancer. *J. Pathol.*,
v.162, n.1, p.43-9, 1990.

ORRELL, J. M., EVANS, A. T., GRANT, A. A critical evaluation of Agnor
counting in benign naevi and malignant melanoma. *J. Pathol.*, v.163,
n.2, p.239-244, 1991.

PARISE JÚNIOR, O. Câncer de boca: aspectos básicos e terapêuticos.
In: KOWALSKI, L. P., NISHIMOTO, I. N. *Epidemiologia do Câncer de
boca – Parte I*. São Paulo: Sarvier, 2000. 256p.

PIFFKÒ, J. et al. Prognostic value of histobiological factors (malignancy
grading and Agnor content) assessed at the invasive tumour front of oral
squamous cell carcinomas. *Br. J. Cancer*, v.75, n.10, p.1543-6, 1997.

PIFFKÒ, J. et al. Standardized Agnor analysis of the invasive tumour front
in oral squamous cell carcinomas. *J. Pathol.*, v.182, n.4, p.450-6, 1997.

PLOTON, D., et al. Improvement in the staining and in the visualization of
the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region of the optical
level. *Histochem. J.*, v.18, n.1, p.5-14, 1986.

- REGEZI, J. A., SCIUBBA, J. J. *Patologia bucal: correlações clinicopatológicas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.122-4, 1989.
- RODRIGUES, V. C., MOSS, S. M., TUOMAINEN, H. Oral cancer in the UK: to screen or not to screen. *Oral Oncol.*, v.34, n.6, p.454-65, 1998.
- ROSA, J., MEHTA, A., FILIPE, M. I. Nucleolar organizer regions in gastric carcinoma and its precursor stages. *Histopathology.*, v.16, n.3, p.265-9, 1990.
- SAMPAIO, M. C. C. et al. Carcinoma espinocelular da boca: estudo clínico de 236 casos. *Ars Cvrandi Odontologia.*, v.2, n.2, p.69-6, 1981.
- SANO, K., et al. Prognostic implication of silver-binding nucleolar organizer regions (Agnors) in oral squamous cell carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.*, v.20, n.2, p.53-6, 1991.
- SCHWINT, A. E. et al. Nucleolar organizer regions in lining epithelium adjacent to squamous cell carcinoma of human oral mucosa. *Cancer*, v.73, n.11, p.2674-9, 1994.
- SEETHARAM, S. S., RAMACHANDRAN, C. R. Fine needle aspiration cytology as a diagnostic test for oral squarmous cell carcinoma. *Oral Dis.*, v.4, n.3, p.180-6, 1998.
- SILVERMAN JÚNIOR, S., SUGERMAN, P. B. Oral premalignancies and squamous cell carcinoma. *Clin. Dermatol.*, v.18, v.5, p.563-8, 2000.
- SMITH, R., CROCKER, J. Evaluation of nucleolar organizer region-associated protein in breast malignancy. *Histopathology*, v.12, v.2, p.113-25, 1988.

- SUTO, T. et al. Assessment of the expression of p53, MIB-1 (Ki-67 antigen), argyrophilic nucleolar organizer regions in carcinoma of the extrahepatic bile duct. *Cancer*, v.82, n.1, p.86-95, 1998.
- TEIXEIRA, G. et al. Argyrophilic nucleolar organizer regions staining is useful in predicting recurrence-free interval in oral tongue and floor of mouth squamous cell carcinoma. *Am. J. Surg.*, v.172, n.6, p.684-8, 1996.
- TRERÈ, D. et al. Agnor area in interphase nuclei of human tumours correlated with the proliferative activity evaluated by bromodeoxyuridine labelling and Ki-67 immunostaining. *J. Pathol.*, v.165, n.1, p.53-59, 1991.
- UNDERWOOD, J. C. E., GIRI, D. D. Nucleolar organizer regions as diagnostic discriminants for malignancy. *J. Pathol.*, v.155, n.2, p.95-6, 1988.
- VAN DER TOL, I. G. H. et al. Risk of second primary cancer following treatment of squamous cell carcinoma of the lower lip. *Oral Oncol.*, v.35, n.6, p.571-4, 1999.
- VAN DIEST, P. J., BRUGAL, G., BAAK, J. P. A. Proliferation marks in tumours: interpretation and clinical value. *J. Clin. Pathol.*, v.51, n.10, p.716-24, 1998.
- VAN HEERDEN, W. F. P., RAUBENHEIMER, E. J. Evaluation of the nucleolar organizer region associated proteins in minor salivary gland tumor. *J. Oral Pathol. Med.*, v.20, n.6, p.291-5, 1991.
- VUHAHULA, E. A. M. et al. Prognostic value of argyrophilic nucleolar organizer regions (Agnor) count in adenoid cystic carcinoma of salivary glands. *Pathol. Int.*, v.44, n.5, p.368-373, 1994.

WARNAKULASURIYA, K. A .A .S., JOHNSON, N. W. Nucleolar organizer region (Nor) distribution as a diagnostic marker in oral keratosis, dysplasia and squamous cell carcinoma. *Oral Pathol. Med.*, v.22, n.2, p.77-81, 1993.

WIGHT, A. J., OGDEN, G. R. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer: a review. *Oral Oncol.*, v.34, n.6, p.441-7, 1998.

WOLANSKI, K. D. et al. The use of epithelial membrane antigen and silver stained nucleolar organizer regions testing in the differential diagnosis of mesothelioma from benign reactive mesothelioses. *Cancer*, v.82, n.3, p.583-90, 1998.

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, n.11, p.2200-8, 1997.

XIE, X. et al. Prognostic significance of nucleolar organizer regions in adenoid cystic carcinomas of the head and neck. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, v.123, n.6, p.615-20, 1997.

XIE, X. et al. Nucleolar organizer regions and prognosis in glottic squamous cell carcinoma. *Head Neck*, v.19, n.1, p.20-6, 1997.

YANG, P., HUANG, G. S., ZHU, X. S. Role of nucleolar organizer regions in differentiating malignant from benign tumours of the colon. *J. Clin. Pathol.*, v.43, n.3, p.235-8, 1990.

APÊNDICES



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

“CAMPUS DE ARAÇATUBA – FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE DIAGNÓSTICO E CIRURGIA DISCIPLINA DE
SEMIOLOGIA

APÊNDICE A

Requisição de Exame: _____ Citopatológico _____
 _____ Histopatológico _____
 Frasco n.º _____
 Prontuário n.º _____

Paciente: _____ Estado Civil: _____
 Sexo: _____ Cor: _____ Cor: _____ Idade: _____
 Profissão/Ocupação: _____
 Naturalidade: _____ Nacionalidade: _____
 Endereço: _____ n.º: _____ Bairro: _____
 (rua, avenida, praça)

TECIDO MOLE TECIDO DURO AMBOS
 Localização da lesão: _____
 Dor _____ Evolução em meses _____ Tratamento _____
 Resultado do tratamento: _____ Recidiva _____

MACROSCOPIA

Tumefação	Úlcera	Pústula	Mancha branca	Mancha vermelha
Nódulo	Erosão	Fístula	Mancha negra	Mancha amarela
Vegetação	Vesícula	Fissura	Mancha marrom	_____
Pápula	Bolha	Cicatriz	Mancha azul	_____

Tamanho _____	Base mole	Leito branco
Cor _____	Base dura	Leito vermelho
Forma regular	Borda suave	Leito granuloso
Forma irregular	Borda evertida	Leito melicérico
Consistência flácida	Borda subminada	Leito hemático
Consistência fibrosa	Halo eritematoso	Leito necrótico
Consistência dura	Limite nítido	Leito vegetante
Base séssil	Limite impreciso	Adenopatia inflamatória
Base pediculada	Leito fibrinoso	Adenopatia neoplásica

Interpretação radiográfica: _____

Esfregaço	B.Incisional	B.Excisional	B.Punção	B.Punção Aspiradora
-----------	--------------	--------------	----------	---------------------

Diagnóstico diferencial: _____
 Diagnóstico clínico: _____
 Araçatuba / /

 Nome

 Assinatura

Responsável pelo encaminhamento

APÊNDICE B

Relação dos Dados Clínicos Referentes aos 81 Casos de Carcinoma Espinocelular de Áreas Distintas da Cavidade Bucal Seleccionados para o Trabalho

	Biópsia	grau	local	idade	sexo	cor	T N M	Fuma	Bebe
1	26/94	bem dif.	lábio	71	masc	branca	T1NoMo	Sim	Sim
2	65/94	bem dif.	lábio	54	fem	branca	T1NoMo	Não	Não
3	373/94	bem dif.	lábio	50	masc	branca	T1NoMo	Sim	Sim
4	79/95	bem dif.	lábio	51	masc	branca	T1NoMo	Não	Não
5	52/95	bem dif.	lábio	41	masc	branca	T1NoMo	Sim	Sim
6	91/95	bem dif.	lábio	75	masc	branca	T1NoMo	Não	Não
7	547/95	bem dif.	lábio	51	masc	branca	T2NoMo	Sim	Não
8	678/95	bem dif.	lábio	64	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
9	612/95	bem dif.	lábio	39	masc	branca	T1NoMo	Não	Não
10	327/96	bem dif.	lábio	35	masc	branca	T1NoMo	Sim	Sim
11	438/96	bem dif.	lábio	74	fem	branca	T1NoMo	Não	Não
12	38/97	bem dif.	lábio	51	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
13	48/98	bem dif.	lábio	85	masc	branca	T1NoMo	Não	Não
14	98/98	bem dif.	lábio	75	masc	branca	T1NoMo	Sim	Sim
15	476/98	bem dif.	lábio	53	masc	branca	T1NoMo	Sim	Sim
16	21/94	bem dif.	língua	36	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
17	57/94	mod dif.	língua	58	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
18	108/94	bem dif.	língua	53	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
19	499/94	mod dif.	língua	42	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
20	615/94	bem dif.	língua	71	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
21	240/95	mod dif.	língua	79	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
22	764/95	bem dif.	língua	74	masc	branca	T3N1Mo	Sim	Sim
23	009/96	bem dif.	língua	47	masc	branca	T2NoMo	Não	Sim

	Biópsia	grau	local	idade	sexo	cor	T N M	Fuma	Bebe
24	29/96	bem dif.	língua	54	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
25	117/96	bem dif.	língua	77	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
26	372/97	bem dif.	língua	60	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
27	812/97	bem dif.	língua	35	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
28	96/98	bem dif.	língua	43	masc	negro	T2NoMo	Sim	Sim
29	150/98	bem dif.	língua	78	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
30	398/98	bem dif.	língua	83	masc	branca	T3N1Mo	Sim	Sim
31	012/94	bem dif.	assoalho	51	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
32	390/94	bem dif.	assoalho	50	fem	branca	T3NoMo	Não	Não
33	008/95	bem dif.	assoalho	42	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
34	91/95	bem dif.	assoalho	52	masc	branca	T4N1Mo	Sim	Sim
35	374/95	bem dif.	assoalho	64	masc	negro	T3N2cMo	Não	Não
36	378/95	bem dif.	assoalho	63	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
37	396/95	bem dif.	assoalho	63	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
38	430/95	bem dif.	assoalho	44	masc	negro	T4NoMo	Sim	Sim
39	489/95	bem dif.	assoalho	72	masc	negro	T4NoMo	Sim	Não
40	635/95	bem dif.	assoalho	59	masc	negro	T4NoMo	Sim	Sim
41	712/95	bem dif.	assoalho	58	masc	branca	T4NoMo	Não	Não
42	38/96	bem dif.	assoalho	58	masc	branca	T3N1Mo	Não	Não
43	91/96	bem dif.	assoalho	42	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
44	165/96	bem dif.	assoalho	54	masc	branca	T4N1Mx	Sim	Sim
45	650/96	bem dif.	assoalho	64	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
46	15/97	bem dif.	assoalho	52	masc	negro	T2NoMo	Sim	Sim
47	165/97	bem dif.	assoalho	60	masc	negro	T2NoMo	Sim	Sim
48	353/97	bem dif.	assoalho	63	masc	negro	T4N1Mo	Sim	Sim
49	011/98	bem dif.	assoalho	46	masc	negro	TxNoMo	Sim	Sim
50	20/98	mod dif.	assoalho	53	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim

	Biópsia	grau	local	idade	sexo	cor	T N M	Fuma	Bebe
51	362/98	mod dif.	assoalho	68	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim
52	417/98	bem dif.	assoalho	55	masc	branca	T4N2Mo	Sim	Não
53	422/98	mod dif.	assoalho	47	masc	branca	T4NoMo	Sim	Sim
54	452/98	mod dif.	assoalho	47	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
55	293/94	bem dif.	palato	81	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
56	577/94	bem dif.	palato	72	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
57	337/95	bem dif.	palato	47	masc	branca	T4NoMo	Sim	Sim
58	564/95	mod dif.	palato	52	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim
59	507/95	bem dif.	palato	53	masc	branca	T4N2cMx	Sim	Sim
60	106/96	bem dif.	palato	59	masc	branca	T3N2cMx	Sim	Sim
61	354/97	bem dif.	palato	61	fem	branca	T2NoMo	Sim	Não
62	382/97	bem dif.	palato	49	masc	branca	T4NoMo	Sim	Sim
63	587/97	bem dif.	palato	30	fem	branca	T1NoMo	Não	Não
64	659/97	bem dif.	palato	59	masc	branca	T4NoMo	Sim	Sim
65	24/98	mod dif.	palato	76	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim
66	316/98	bem dif.	palato	63	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
67	481/98	bem dif.	palato	75	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim
68	58/94	bem dif.	Retromolar	49	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
69	600/94	bem dif.	Retromolar	51	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
70	373/95	mod dif.	Retromolar	46	masc	branca	T4NoMo	Sim	Sim
71	364/95	mod dif.	Retromolar	52	masc	branca	T3N2bMo	Sim	Sim
72	262/96	bem dif.	Retromolar	61	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
73	370/96	bem dif.	Retromolar	63	masc	branca	T2NoMo	Sim	Sim
74	378/96	bem dif.	Retromolar	63	masc	branca	T2NoMo	Não	Não
75	517/96	bem dif.	Retromolar	73	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
76	004/97	bem dif.	Retromolar	41	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
77	008/97	bem dif.	Retromolar	93	fem	branca	T4N1Mo	Não	Não

	Biópsia	grau	Local	idade	sexo	cor	T N M	Fuma	Bebe
78	130/97	bem dif.	Retromolar	56	masc	branca	T4NoMo	Sim	Não
79	009/98	mod dif.	Retromolar	46	masc	branca	T3NoMo	Sim	Sim
80	166/98	bem dif.	Retromolar	66	fem	branca	T4NoMo	Não	Não
81	239/98	bem dif.	Retromolar	50	masc	branca	T4NoMo	Sim	Sim

APÊNDICE C

Relação dos dados clínicos referentes aos 68 casos de carcinoma espinocelular de áreas distintas selecionadas para a coloração de Agnor.

	Biópsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe
1	26/94	Bem dif	Lábio	71	Mas	Branc	T1NoMo	Sim	Sim
2	65/94	Bem dif	Lábio	54	Fem	Branc	T1NoMo	Não	Não
3	373/94	Bem dif	Lábio	50	Mas	Branc	T1NoMo	Sim	Sim
4	52/95	Bem dif	Lábio	41	Mas	Branc	T1NoMo	Sim	Sim
5	91/95	Bem dif	Lábio	75	Mas	Branc	T1NoMo	Não	Não
6	547/95	Bem dif	Lábio	51	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Não
7	678/95	Bem dif	Lábio	64	Mas	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
8	327/96	Bem dif	Lábio	35	Mas	Branc	T1NoMo	Sim	Sim
9	38/97	Bem dif	Lábio	51	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
10	98/98	Bem dif	Lábio	75	Mas	Branc	T1NoMo	Sim	Sim
11	476/98	Bem dif	Lábio	53	Mas	Branc	T1NoMo	Sim	Sim
12	438/96	Bem dif	Lábio	74	Fem	Branc	T1NoMo	Não	Não
	Biópsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe
13	21/94	Bem dif	Língua	36	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
14	57/94	Mod dif	Língua	58	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
15	108/94	Bem dif	Língua	53	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
16	499/94	Mod dif	Língua	42	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
17	615/94	Bem dif	Língua	71	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
18	240/95	Mod dif	Língua	79	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
19	764/95	Bem dif	Língua	74	Mas	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
20	29/96	Bem dif	Língua	54	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
21	117/96	Bem dif	Língua	77	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
22	372/97	Bem dif	Língua	60	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
23	812/97	Bem dif	Língua	35	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
24	96/98	Bem dif	Língua	43	Mas	negro	T2NoMo	Sim	Sim
25	150/98	Bem dif	Língua	78	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
26	398/98	Bem dif	Língua	83	Mas	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
	Biópsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe
27	390/94	Bem dif	Assoalho	50	Fem	Branc	T3NoMo	Não	Não
28	008/95	Bem dif	Assoalho	42	Mas	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
29	374/95	Bem dif	Assoalho	64	Mas	Negro	T3N2cMo	Não	Não
30	378/95	Bem dif	Assoalho	63	Mas	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
31	396/95	Bem dif	Assoalho	63	Mas	Branc	T4NoMo	Sim	Sim
32	430/95	Bem dif	Assoalho	44	Mas	Negro	T4NoMo	Sim	Sim
33	489/95	Bem dif	Assoalho	72	Mas	Negro	T4NoMo	Sim	Sim
34	712/95	Bem dif	Assoalho	58	Mas	Branc	T2NoMo	Não	Não
35	91/96	Bem dif	Assoalho	42	Mas	Branc	T4NoMo	Sim	Sim
36	165/96	Bem dif	Assoalho	54	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
37	650/96	Bem dif	Assoalho	64	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
38	15/97	Bem dif	Assoalho	52	Mas	Negro	T2NoMo	Sim	Sim
39	165/97	Bem dif	Assoalho	60	Mas	Negro	T2NoMo	Sim	Sim

40	011/98	Bem dif	Assoalho	46	Mas	Negro	TxNoMo	Sim	Sim
41	20/98	Mod dif	Assoalho	53	Mas	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
42	362/98	Mod dif	Assoalho	68	Mas	Negro	T3NoMo	Sim	sim
43	422/98	Mod dif	Assoalho	47	Mas	Branc	T4NoMo	Sim	Sim
44	452/98	Mod dif	Assoalho	47	Mas	branc	T2NoMo	Sim	Sim
	Biópsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe
45	293/94	Bem dif	Palato	81	Mas	branc	T3NoMo	Sim	Sim
46	577/94	Bem dif	Palato	72	Mas	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
47	337/95	Bem dif	Palato	47	Mas	Branc	T4NoMo	Sim	Sim
48	564/95	Mod dif	Palato	52	Mas	Negro	T3NoMo	Sim	Sim
49	507/95	Bem dif	Palato	53	Mas	Branc	T4N2cMx	Sim	Sim
50	106/96	Bem dif	Palato	59	Mas	Branc	T3N2cMx	Sim	Sim
51	354/97	Bem dif	Palato	61	Fem	Branc	T2NoMo	Sim	Não
52	587/97	Bem dif	Palato	30	Fem	Branc	T1NoMo	Não	Não
53	659/97	Bem dif	Palato	59	Mas	Branc	T4NoMo	Sim	Sim
54	24/98	Mod dif	Palato	76	Mas	Negro	T3NoMo	Sim	Sim
55	316/98	Bem dif	Palato	63	Mas	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
56	481/98	Bem dif	Palato	75	Mas	Negro	T3NoMo	Sim	Sim
	Biópsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe
57	58/94	Bem dif	Retromolar	49	Masc	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
58	600/94	Bem dif	Retromolar	51	Masc	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
59	373/95	Mod dif	Retromolar	46	Masc	Branc	T4NoMo	Sim	Sim
60	364/95	Mod dif	Retromolar	52	Masc	Branc	T3N2bMo	Sim	Sim
61	262/96	Bem dif	Retromolar	61	Masc	Branc	T2NoMo	Sim	Sim
62	378/96	Bem dif	Retromolar	63	Masc	Branc	T2NoMo	Não	Não
63	517/96	Bem dif	Retromolar	73	Masc	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
64	004/97	Bem dif	Retromolar	41	Masc	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
65	130/97	Bem dif	Retromolar	56	Masc	Branc	T4NoMo	Sim	Não
66	009/98	Mod dif	Retromolar	46	Masc	Branc	T3NoMo	Sim	Sim
67	166/98	Bem dif	Retromolar	66	Fem	Branc	T4NoMo	Não	Não
68	239/98	Bem dif	Retromolar	50	Masc	Branc	T4NoMo	Sim	Sim

APÊNDICE D

Dados Quantitativos e Morfométricos das Regiões organizadoras de nucléolos (Nors) e dos Respectivos Núcleos

Tabela 24 – Dados quantitativos e morfométricos do número de Nor e área das Nors de carcinoma espinocelular de lábio inferior

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	Nº Nor	Área Nor
1	26/94	bem dif	lábio	71	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	1a	38	2.80
										1b	30	2.77
2	65/94	bem dif	lábio	54	fem	branc	T1NoMo	Não	Não	8c	13	4.84
										8d	30	2.33
3	373/94	bem dif	lábio	50	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	9a	39	2.70
										9b	12	5.52
4	52/95	bem dif	lábio	41	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	10a	30	2.33
										10b	24	6.70
5	91/95	bem dif	lábio	75	masc	branc	T1NoMo	Não	Não	2a	35	2.94
										2b	39	1.77
6	547/95	bem dif	lábio	51	masc	branc	T2NoMo	Sim	Não	11c	24	6.72
										11d	35	3.44
7	678/95	bem dif	lábio	64	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	7a	25	2.63
										7b	35	3.44
8	327/96	bem dif	lábio	35	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	12a	30	2.57
										12b	32	3.20
9	438/96	bem dif	lábio	74	fem	branc	T1NoMo	Não	Não	3a	13	4.84
										3b	12	5.52
10	381/97	bem dif	lábio	51	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	4a	30	2.33
										4b	25	2.63
11	98/98	bem dif	lábio	75	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	5a	30	2.57
										5b	28	2.73
12	476/98	bem dif	lábio	53	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	6a	32	3.20
										6b	34	3.38

Tabela 25 - Dados Quantitativos e Morfométricos do Número de Núcleo e Área dos Núcleos de carcinoma espinocelular de lábio inferior

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	Nº Núcleo	Área Núcleo
1	26/94	bem dif	lábio	71	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	1a	36	32.50
										1b	40	28.30
2	65/94	bem dif	lábio	54	fem	branc	T1NoMo	Não	Não	8c	17	36.80
										8d	31	25.12
3	373/94	bem dif	lábio	50	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	9a	22	25.10
										9b	21	26.80
4	52/95	bem dif	lábio	41	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	10a	24	32.30
										10b	34	21.30
5	91/95	bem dif	lábio	75	masc	branc	T1NoMo	Não	Não	2a	37	32.58
										2b	41	28.23
6	547/95	bem dif	lábio	51	masc	branc	T2NoMo	Sim	Não	11c	25	32.33
										11d	33	21.61
7	678/95	bem dif	lábio	64	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	7a	23	24.15
										7b	19	25.30
8	327/96	bem dif	lábio	35	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	12a	16	32.10
										12b	20	36.15
9	438/96	bem dif	lábio	74	fem	branc	T1NoMo	Não	Não	3a	21	25.05
										3b	20	26.93
10	381/97	bem dif	lábio	51	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	4a	22	24.03
										4b	18	26.32
11	98/98	bem dif	lábio	75	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	5a	15	31.12
										5b	19	36.15
12	476/98	bem dif	lábio	53	masc	branc	T1NoMo	Sim	Sim	6a	18	37.89
										6b	30	24.87

Tabela 26 - Dados Quantitativos e Morfométricos do Número de Nor e Área dos Nors de Carcinomas Espinocelular da Língua

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	Nº Nor	Área Nor
1	21/94	bem dif	Língua	36	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	8a	58	1.20
										8b	25	3.60
2	57/94	Bem dif	Língua	58	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	5a	25	3.89
										5b	18	4.16
3	108/94	Bem dif	Língua	53	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	1a	58	1.18
										1b	37	2.91
4	499/94	Bem dif	Língua	42	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	6a	19	2.08
										6b	10	3.67
5	615/94	bem dif	Língua	71	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	2a	47	1.92
										2b	21	1.52
6	240/95	bem dif	Língua	79	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	9a	22	1.80
										9c	32	1.20
7	764/95	bem dif	Língua	74	masc	branc	T3N1Mo	Sim	Sim	10a	39	1.92
										10d	24	1.80
8	29/96	bem dif	Língua	54	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	11b	16	3.12
										11c	20	2.80
9	117/96	bem dif	Língua	77	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	7a	39	1.92
										7b	24	1.81
10	372/97	bem dif	Língua	60	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	3a	32	1.13
										3c	40	1.95
11	812/97	bem dif	Língua	35	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	12a	20	2.70
										12b	18	2.54
12	96/98	bem dif	Língua	43	masc	negro	T2NoMo	Sim	Sim	13a	25	3.02
										13c	28	2.80
13	150/98	bem dif	Língua	78	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	4a	15	3.16
										4b	19	1.77
14	398/98	bem dif	Língua	83	masc	branc	T3N1Mo	Sim	Sim	14a	25	3.70
										14b	17	4.13

Tabela 27 - Dados Quantitativos e Morfométricos do Número de Núcleo e Área de Núcleo de Carcinoma Espinocelular da Língua

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	Nº Núcleo	Área Núcleo
1	21/94	bem dif	Língua	36	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	8a	28	39.50
										8b	18	58.14
2	57/94	bem dif	Língua	58	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	5a	20	59.48
										5b	18	54.96
3	108/94	bem dif	Língua	53	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	1a	27	39.70
										1b	17	58.51
4	499/94	bem dif	Língua	42	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	6a	17	37.97
										6b	14	40.97
5	615/94	bem dif	Língua	71	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	2a	26	22.31
										2b	26	42.23
6	240/95	bem dif	Língua	79	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	9a	21	58.40
										9c	19	54.95
7	764/95	bem dif	Língua	74	masc	branc	T3N1Mo	Sim	Sim	10a	22	29.70
										10d	14	37.90
8	29/96	bem dif	Língua	54	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	11b	18	36.82
										11c	15	40.53
9	117/96	bem dif	Língua	77	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	7a	23	40.22
										7b	15	50.09
10	372/97	bem dif	Língua	60	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	3a	17	41.14
										3c	16	29.22
11	812/97	bem dif	Língua	35	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	12a	25	23.12
										12b	26	40.32
12	96/98	bem dif	Língua	43	masc	negro	T2NoMo	Sim	Sim	13a	18	41.16
										13c	17	29.20
13	150/98	bem dif	Língua	78	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	4a	21	29.27
										4b	13	37.91
14	398/98	bem dif	Língua	83	masc	branc	T3N1Mo	Sim	Sim	14a	24	40.23
										14b	16	55.09

Tabela 28 - Dados Quantitativos e Morfométricos do Número de Nor e Área das Nor de Carcinoma Espinocelular de Assoalho Bucal

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	Nº Nor	Área Nor
1	390/94	bem dif	Assoalho	50	masc	branc	T3NoMo	Não	Não	1a	32	3.17
										1b	31	2.49
2	08/95	bem dif	Assoalho	42	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	2a	73	1.02
										2c	45	1.70
3	374/95	bem dif	Assoalho	64	masc	negro	T3N2cMo	Não	Não	3b	19	4.54
										3c	36	2.90
4	378/95	bem dif	Assoalho	63	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	4a	33	3.17
										4b	25	3.08
5	396/95	bem dif	Assoalho	63	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	9a	38	3.20
										9c	13	3.15
6	430/95	bem dif	Assoalho	44	masc	negro	T4NoMo	Sim	Sim	10b	24	1.20
										10d	73	1.25
7	489/95	bem dif	Assoalho	72	masc	negro	T4NoMo	Sim	Sim	11a	32	2.50
										11b	28	2.47
8	712/95	bem dif	Assoalho	58	masc	branc	T4NoMo	Não	Não	15a	25	1.32
										15b	22	1.28
9	91/96	bem dif	Assoalho	42	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	5a	76	1.17
										5b	96	1.46
10	165/96	bem dif	Assoalho	54	masc	branc	T4N1Mx	Sim	Sim	6a	18	4.53
										6c	37	2.91
11	650/66	bem dif	Assoalho	64	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	7a	15	4.20
										7b	35	2.70
12	15/97	bem dif	Assoalho	52	masc	negro	T2NoMo	Sim	Sim	17a	68	1.27
										17b	38	1.47
13	165/97	bem dif	Assoalho	60	masc	negro	T2NoMo	Sim	Sim	8a	68	1.15
										8b	52	2.70
14	11/98	bem dif	Assoalho	46	masc	negro	TxNoMo	Sim	Sim	12a	37	3.92
										12b	45	3.15
15	20/98	mod dif	Assoalho	53	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	13b	38	3.08
										13d	43	3.12
16	362/98	mod dif	Assoalho	68	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim	14a	31	2.49
										14b	27	2.53
17	422/98	mod dif	Assoalho	47	masc	branc	T4N2Mo	Sim	Sim	16a	69	1.14
										16c	53	2.71
18	452/98	mod dif	Assoalho	47	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	18a	35	3.21
										18b	42	3.15

Tabela 29 - Dados Quantitativos e Morfométricos do Número de Núcleo e Área de Carcinoma Espinocelular de Assoalho Bucal

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	Nº Núcleo	Área Núcleo
1	390/94	bem dif	Assoalho	50	masc	branc	T3NoMo	Não	Não	1a	31	53.28
										1b	26	46.25
2	08/95	bem dif	Assoalho	42	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	2a	36	21.82
										2c	31	21.46
3	374/95	bem dif	Assoalho	64	masc	negro	T3N2cMo	Não	Não	3b	32	28.40
										3c	30	21.92
4	378/95	bem dif	Assoalho	63	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	4a	30	53.22
										4b	25	46.23
5	396/95	bem dif	Assoalho	63	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	9a	40	29.60
										9c	27	42.10
6	430/95	bem dif	Assoalho	44	masc	negro	T4NoMo	Sim	Sim	10b	28	20.19
										10d	32	24.63
7	489/95	bem dif	Assoalho	72	masc	negro	T4NoMo	Sim	Sim	11a	23	34.60
										11b	21	31.00
8	712/95	bem dif	Assoalho	58	masc	branc	T4NoMo	Não	Não	15a	35	26.50
										15b	30	21.54
9	91/96	bem dif	Assoalho	42	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	5a	41	29.62
										5b	28	42.02
10	165/96	bem dif	Assoalho	54	masc	branc	T4N1Mx	Sim	Sim	6a	21	43.18
										6c	24	45.14
11	650/66	bem dif	Assoalho	64	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	7a	27	20.14
										7b	31	24.60
12	15/97	bem dif	Assoalho	52	masc	negro	T2NoMo	Sim	Sim	17a	22	34.72
										17b	23	30.07
13	165/97	bem dif	Assoalho	60	masc	negro	T2NoMo	Sim	Sim	8a	21	43.07
										8b	23	47.13
14	11/98	bem dif	Assoalho	46	masc	negro	TxNoMo	Sim	Sim	12a	22	46.80
										12b	21	45.22
15	20/98	mod dif	Assoalho	53	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	13b	23	16.89
										13d	20	45.24
16	362/98	mod dif	Assoalho	68	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim	14a	31	28.12
										14b	33	20.92
17	422/98	mod dif	Assoalho	47	masc	branc	T4N2Mo	Sim	Sim	16a	20	41.02
										16c	29	65.34
18	452/98	mod dif	Assoalho	47	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	18a	30	41.12
										18b	21	65.20

Tabela 30 - Dados Quantitativos e Morfométricos do Número de Nor e Área das Nor de Carcinoma Espinocelular de Palato

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	Nº Nor	Área Nor
1	293/94	bem dif	Palato	81	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	1a	45	1.68
										1b	27	2.28
2	577/94	bem dif	Palato	72	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	4a	43	3.50
										4b	49	2.60
3	337/95	bem dif	Palato	47	masc	branc	T4NoMo	Sim	Sim	2a	46	1.69
										2b	28	2.38
4	564/95	mod dif	Palato	52	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim	5a	45	1.27
										5b	56	1.29
5	507/95	bem dif	Palato	53	masc	branc	T4N2cMx	Sim	Sim	8a	42	3.48
										8c	44	3.20
6	106/96	bem dif	Palato	59	masc	branc	T3N2cMx	Sim	Sim	7c	55	1.49
										7d	36	1.85
7	354/97	bem dif	Palato	61	fem	branc	T2NoMo	Sim	Não	9a	46	1.68
										9b	28	2.30
8	587/97	bem dif	Palato	30	fem	branc	T1NoMo	Não	Não	6a	58	1.81
										6c	53	1.40
9	659/97	bem dif	Palato	59	masc	branc	T4NoMo	Sim	Sim	3a	45	3.40
										3b	48	3.25
10	24/98	mod dif	Palato	76	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim	10a	43	2.95
										10b	31	3.41
11	316/98	bem dif	Palato	63	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	12a	55	1.20
										12b	54	1.45
12	481/98	bem dif	Palato	75	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim	11a	45	1.28
										11b	55	1.12

Tabela 31 - Dados Quantitativos e Morfométricos do Número de Núcleo e Área de Núcleo de Carcinoma Espinocelular de Palato

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	Nº Núcleo	Área Núcleo
1	293/94	bem dif	Palato	81	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	1a	21	42.49
										1b	18	42.01
2	577/94	bem dif	Palato	72	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	4a	19	64.07
										4b	19	57.80
3	337/95	bem dif	Palato	47	masc	branc	T4NoMo	Sim	Sim	2a	22	42.30
										2b	19	41.00
4	564/95	mod dif	Palato	52	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim	5a	20	64.20
										5b	21	58.10
5	507/95	bem dif	Palato	53	masc	branc	T4N2cMx	Sim	Sim	8a	24	47.60
										8c	20	54.20
6	106/96	bem dif	Palato	59	masc	branc	T3N2cMx	Sim	Sim	7c	31	35.49
										7d	30	28.40
7	354/97	bem dif	Palato	61	fem	branc	T2NoMo	Sim	Não	9a	32	24.30
										9b	33	23.52
8	587/97	bem dif	Palato	30	fem	branc	T1NoMo	Não	Não	6a	22	60.48
										6c	29	44.86
9	659/97	bem dif	Palato	59	masc	branc	T4NoMo	Sim	Sim	3a	23	60.45
										3b	20	45.80
10	24/98	mod dif	Palato	76	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim	10a	23	47.81
										10b	19	54.51
11	316/98	bem dif	Palato	63	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	12a	30	35.42
										12b	29	28.42
12	481/98	bem dif	Palato	75	masc	negro	T3NoMo	Sim	Sim	11a	33	23.31
										11b	34	23.74

Tabela 32 - Dados Quantitativos e Morfométricos d Número de Nor e Área das Nor de Carcinoma Espinocelular de Retromolar

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	Nº Nor	Área Nor
1	58/94	bem dif	Retromolar	49	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	3a	50	2.56
										3c	48	2.71
2	600/94	bem dif	Retromolar	51	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	5a	35	2.33
										5b	32	1.94
3	373/95	mod dif	Retromolar	46	masc	branc	T4NoMo	Sim	Sim	11a	92	1.60
										11b	85	1.73
4	364/95	mod dif	Retromolar	52	masc	branc	T3N2bMo	Sim	Sim	9a	54	1.84
										9b	47	2.45
5	262/96	bem dif	Retromolar	61	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	1a	50	1.51
										1b	70	1.20
6	378/96	bem dif	Retromolar	63	masc	branc	T2NoMo	Não	Não	4a	35	2.32
										4b	32	1.86
7	517/96	bem dif	Retromolar	73	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	2a	64	1.54
										2b	62	1.48
8	04/97	bem dif	Retromolar	41	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	7a	52	2.12
										7b	45	1.97
9	130/97	bem dif	Retromolar	56	masc	more na	T4NoMo	Sim	Não	10a	35	2.40
										10b	34	2.20
10	09/98	mod dif	Retromolar	46	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	8a	44	2.07
										8b	47	1.59
11	166/98	bem dif	Retromolar	66	fem	branc	T4NoMo	Não	Não	12a	36	2.20
										12b	32	2.32
12	239/98	bem dif	Retromolar	50	masc	branc	T4NoMo	Sim	Sim	6a	53	1.83
										6b	48	2.47

Tabela 33 - Dados Quantitativos e Morfométricos Do N° De Núcleo E Área
De Núcleo de Carcinoma Espinocelular de Retromolar

	Biopsia	Grau	Local	Idade	Sexo	Cor	TNM	Fuma	Bebe	Área de Contagem	N° Núcleo	Área Núcleo
1	58/94	bem dif	Retromolar	49	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	3a	27	38.27
										3c	35	25.47
2	600/94	bem dif	Retromolar	51	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	5a	26	29.02
										5b	21	55.37
3	373/95	mod dif	Retromolar	46	masc	branc	T4NoMo	Sim	Sim	11a	25	42.10
										11b	40	25.30
4	364/95	mod dif	Retromolar	52	masc	branc	T3N2bMo	Sim	Sim	9a	31	42.05
										9b	35	40.52
5	262/96	bem dif	Retromolar	61	masc	branc	T2NoMo	Sim	Sim	1a	24	42.08
										1b	41	24.47
6	378/96	bem dif	Retromolar	63	masc	branc	T2NoMo	Não	Não	4a	28	42.57
										4b	24	48.09
7	517/96	bem dif	Retromolar	73	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	2a	18	48.76
										2b	21	46.72
8	04/97	bem dif	Retromolar	41	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	7a	27	42.57
										7b	25	48.12
9	130/97	bem dif	Retromolar	56	masc	morena	T4NoMo	Sim	Não	10a	18	59.70
										10b	15	52.30
10	09/98	mod dif	Retromolar	46	masc	branc	T3NoMo	Sim	Sim	8a	17	59.74
										8b	15	52.37
11	166/98	bem dif	Retromolar	66	fem	branc	T4NoMo	Não	Não	12a	26	38.21
										12b	34	25.40
12	239/98	bem dif	Retromolar	50	masc	branc	T4NoMo	Sim	Sim	6a	30	42.20
										6b	32	40.31

APÊNDICE E

Dados Quantitativos e Morfométricos das médias do Número da Nor e Núcleo e Área das Nors e Núcleo

Tabela 34 – Dados quantitativos e morfométricos das médias do número da Nors e Núcleo e área das Nors e Núcleo de carcinoma espinocelular do lábio inferior

	Biopsia	Idade	Sexo	Cor	Nº Médio Nors	Área Média Nor	Nº Médio Núcleo	Área Média Núcleo
1	26/94	71	masc	branc	34.0	2.78	38.0	33.40
2	65/94	54	fem	branc	21.5	3.58	24.0	30.96
3	373/94	50	masc	branc	25.5	4.11	21.5	25.95
4	52/95	41	masc	branc	27.0	4.51	29.0	26.80
5	91/95	75	masc	branc	38.5	2.35	39.0	30.37
6	547/95	51	masc	branc	29.5	5.08	29.0	29.47
7	678/95	64	masc	branc	30.0	3.03	21.0	24.72
8	327/96	35	masc	branc	31.0	2.88	18.0	34.12
9	438/96	74	fem	branc	12.5	5.18	24.0	21.42
10	381/97	51	masc	branc	27.5	2.48	20.5	25.99
11	98/98	75	masc	branc	29.0	2.65	20.0	25.17
12	476/98	53	masc	branc	33.0	3.29	17.0	33.63
Média Geral					28,25	3,49	25,08	28,50

Tabela 35 - Dados quantitativos de morfométricos das médias do número da Nors e Núcleo e área das Nors e Núcleo de carcinoma espinocelular da língua

	Biopsia	Idade	Sexo	Cor	Nº Médio Nors	Área Média Nor	Nº Médio Núcleo	Área Média Núcleo
1	21/94	36	masc	branc	41.5	2.40	23.0	48.82
2	57/94	58	masc	branc	21.5	4.02	19.0	57.22
3	108/94	53	masc	branc	47.5	2.04	22.0	49.10
4	499/94	42	masc	branc	14.0	2.87	15.5	39.47
5	615/94	71	masc	branc	34.0	1.72	26.0	32.27
6	240/95	79	masc	branc	27.0	1.40	20.0	56.67
7	764/95	74	masc	branc	31.5	1.86	18.0	33.80
8	29/96	54	masc	branc	18.0	2.96	16.5	38.67
9	117/96	77	masc	branc	31.5	1.86	19.0	47.65
10	372/97	60	masc	branc	36.0	1.54	16.5	35.18
11	812/97	35	masc	branc	19.0	2.62	25.5	31.72
12	96/98	43	masc	negro	26.5	2.91	17.5	35.18
13	150/98	78	masc	branc	17.0	2.46	17.0	33.59
14	398/98	83	masc	branc	21.0	3.91	20.0	47.66
Média Geral					27,57	2,46	19,67	41,93

Tabela 36 - Dados quantitativos de morfométricos das médias do número das Nors e Núcleo e área das Nors e Núcleo de carcinoma espinocelular do assoalho bucal

	Biopsia	Idade	Sexo	Cor	Nº Médio Nors	Área Média Nor	Nº Médio Núcleo	Área Média Núcleo
1	390/94	50	masc	branc	31.5	2.83	28.5	49.76
2	08/95	42	masc	branc	59.0	1.36	33.5	21.64
3	374/95	64	masc	negro	27.5	3.72	31	25.16
4	378/95	63	masc	branc	29.0	3.12	27.5	49.72
5	396/95	63	masc	branc	40.5	3.17	33.5	35.85
6	430/95	44	masc	negro	48.5	1.18	30.0	22.41
7	489/95	72	masc	negro	30.0	2.48	27.0	33.70
8	712/95	58	masc	branc	23.5	1.30	32.5	21.52
9	91/96	42	masc	branc	86.0	1.31	34.5	35.82
10	165/96	54	masc	branc	27.5	3.72	22.5	44.16
11	650/66	64	masc	branc	25.0	3.45	29.0	22.37
12	15/97	52	masc	negro	53.0	1.37	22.5	32.39
13	165/97	60	masc	negro	60.0	1.92	22.0	45.10
14	11/98	46	masc	negro	41.0	3.53	21.5	46.01
15	20/98	53	masc	branc	40.5	3.10	21.5	46.06
16	362/98	68	masc	negro	29.0	2.51	32.0	24.67
17	422/98	47	masc	branc	61.0	1.92	24.5	53.18
18	452/98	47	masc	branc	38.5	3.18	25.5	53.16
Média Geral					41,72	2,50	27,72	36,82

Tabela 37 - Dados quantitativos de morfométricos das médias do número das Nors e Núcleo e área das Nors e Núcleo de carcinoma espinocelular do palato

	Biopsia	Idade	Sexo	Cor	Nº Médio Nors	Área Média Nor	Nº Médio Núcleo	Área Média Núcleo
1	293/94	81	masc	branc	36	1.98	19.5	42.25
2	577/94	72	masc	branc	46	3.05	19	60.93
3	337/95	47	masc	branc	37	2.03	20.5	41.65
4	564/95	52	masc	negro	50.5	1.18	20.5	61.15
5	507/95	53	masc	branc	43	3.34	22	50.90
6	106/96	59	masc	branc	45.5	1.67	30.5	31.94
7	354/97	61	fem	branc	37	1.99	32.5	23.91
8	587/97	30	fem	branc	55.5	1.60	25.5	52.67
9	659/97	59	masc	branc	46.5	3.32	21.5	53.12
10	24/98	76	masc	negro	37	3.18	21	51.16
11	316/98	63	masc	branc	54.5	1.32	29.5	31.92
12	481/98	75	masc	negro	50	1.20	33.5	23.52
Média Geral					44,87	2,15	24,62	43,76

Tabela 38 - Dados quantitativos de morfométricos das médias do número das Nors e Núcleo e área das Nors e Núcleo de Carcinoma Espinocelular retromolar

	Biopsia	Idade	Sexo	Cor	Nº Médio Nors	Área Média Nor	Nº Médio Núcleo	Área Média Núcleo
1	58/94	49	masc	branc	49.0	2.63	31.0	31.87
2	600/94	51	masc	branc	33.5	2.13	23.5	42.19
3	373/95	46	masc	branc	88.5	1.66	32.5	33.70
4	364/95	52	masc	branc	50.5	2.14	33.0	41.28
5	262/96	61	masc	branc	60.0	1.35	32.5	33.27
6	378/96	63	masc	branc	33.5	2.09	26.0	45.33
7	517/96	73	masc	branc	63.0	1.51	19.5	47.76
8	04/97	41	masc	branc	48.5	2.04	26.0	45.34
9	130/97	56	masc	morena	34.5	2.30	16.5	56
10	09/98	46	masc	branc	45.5	1.83	16.0	56.05
11	166/98	66	fem	branc	34.0	2.26	30.0	31.80
12	239/98	50	masc	branc	50.5	2.15	31.0	41.25
Média Geral					49,25	2,0	26,45	42,15

RESUMO

RESUMO

Realizamos um estudo clínico, histopatológico e histoquímico utilizando a técnica de coloração pela prata, para evidenciação das regiões organizadoras de nucléolos (Agnor). Foram analisados 81 casos de biópsias incisoriais de carcinoma espinocelular de boca de regiões diferentes, ou seja, lábio, língua, assoalho, palato e retromolar. Foram observados e analisados os dados com relação a sexo, cor, idade, grau de diferenciação, estadiamento e hábitos de fumar e beber. Esses dados analisados entre si revelaram que a maior incidência de carcinoma espinocelular em nossos estudos foi de carcinoma de assoalho bucal em torno de 30% contrariando a literatura que se refere à língua como local de maior frequência; os outros dados analisados foram todos concordantes com a literatura de vários autores. A análise quantitativa e morfométrica das Nors foram realizadas por um sistema computadorizado, Imagelab 2000 que analisa as imagens capturadas de um microscópio por uma câmera e transfere para o sistema computadorizado, onde são analisadas. Usando esse sistema analisamos lâminas coradas pela técnica Agnor para verificação do número de Nors, área das Nors, número de Núcleos e área dos Núcleos das células presentes em tecidos removidos por biópsia incisiva de boca, em áreas diferentes. Pelos resultados obtidos na análise histoquímica podemos verificar que existe uma diferença significativa na proporção do número de Nors/Núcleo para as diferentes áreas analisadas, mas que são coerentes com a literatura em carcinoma bem diferenciado e moderadamente diferenciado. Notamos ainda diferenças significativas entre as áreas das Nors, área dos Núcleos e números dos Núcleos entre as regiões diferentes analisadas e não conclusiva, portanto necessitando de outros estudos com a técnica de Agnor para aprimoramento da mesma, elucidação de resultados e uso mais freqüente em laboratórios de Anatomia Patológica.

Palavras-chave: Carcinoma espinocelular; Processamento de imagem assistida por computador; Agnor.

ABSTRACT

ABSTRACT

We have carried out a clinical, histopathological and histochemical study using silver staining technique, to evidence the nucleolar organizing regions (Agnor). Eighty-one cases of incisional biopsies of oral squamous cell carcinoma from different regions of the mouth (lip, tongue, floor, palate and retromolar) have been observed and analyzed with regard to sex, race, age, degree of differentiation, staging and habit to smoke and to drink. The compared analyses of the data in our study indicated a greater incidence of oral floor cell carcinoma (about 30%) in disagreement with the current literature which mentions the tongue as the local of greater occurrence. The other analyzed data were all in agreement with the literature. The quantitative and morphometric analyses of the Nors have been carried out by a computerized system, Imagelab 2000 that analyzes the captured images of a microscope for a camera and transfers to the computerized system, where are analyzed. Using this system we have analyzed slides stained by the Agnor technique for verification of the number of Nors, area of the Nors, number of nuclei and area of the nuclei of the cells present in tissue removed by incisional biopsy of mouth in different areas. By the results gotten in the histochemical analysis we can verify that there is a significant difference in the ratio of the number of Nors/Nuclei for the different analyzed areas, but they are coherent with the literature for well differentiated and moderately differentiated carcinoma. We notice too significant differences between the areas of the Nors, area and the numbers of the nuclei among the different regions analyzed and not conclusive, therefore needing other studies with the Agnor technique for better interpretation of the results.

Key-words: oral squamous cell carcinoma; Image Processing computer-assisted; Agnor.