

# Avaliação da Área Nuclear de Células da Camada Basal de Epitélio Normal, de Lesão Cancerizável e de Carcinoma Epidermóide

## *Evaluation of Basal Layer Cells in Normal Epithelium, Precancerous Lesions and Squamous Cell Carcinoma*

Luhana Gedoz\*  
 Paula Luce Bohrer\*\*  
 Tatiana Andrea Soares Pinto\*\*  
 Pantelis Varvaki Rados\*\*\*

### RESUMO

Técnicas microscópicas quantitativas permitem obterem-se informações específicas na avaliação dos parâmetros microscópicos. Estas técnicas podem ser utilizadas em estudos de lesões com potencial de transformação maligna como um importante marcador prognóstico. O objetivo deste estudo foi, através de uma análise morfométrica, avaliar a área nuclear das células da camada basal de lesões cancerizáveis com diagnóstico histopatológico de hiperqueratose com acantose. Foram utilizados como controle epitélio normal e carcinoma epidermóide. Para tal, selecionaram-se 10 casos com diagnóstico histopatológico de hiperqueratose com acantose e 10 casos de carcinoma epidermóide registrados no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da UFRGS e incluídos em blocos de parafina. Foram selecionados aleatoriamente 3 campos nas lâminas de hiperqueratose com acantose, 3 campos na área central do tumor e 3 campos na área de epitélio normal adjacente ao tumor. A mensuração da área nuclear das células foi realizada através de um sistema computadorizado de processamento e Análise de Imagens (IMAGELAB®). Os resultados obtidos através do teste ANOVA mostraram que as áreas nucleares dos grupos de hiperqueratose com acantose e epitélio normal não diferem entre si estatisticamente. Observou-se, ainda, que a área nuclear no grupo do carcinoma epidermóide é maior que nos demais grupos, indicando que as técnicas de quantificação morfológica apresentaram o valor prognóstico estabelecido em nosso estudo.

### PALAVRAS-CHAVE

Mucosa bucal; área nuclear; morfometria

### INTRODUÇÃO

O mecanismo da carcinogênese está relacionado com proliferação celular e invasão dos tecidos adjacentes pelo rompimento da membrana basal (CAWSON, 1995). O carcinoma epidermóide bucal é uma lesão maligna que pode ser precedida por lesões cancerizáveis. A leucoplasia é definida como uma placa ou mancha branca, não removida por raspagem e representa uma lesão cancerizável, sendo que cerca de 6% dos carcinomas iniciam a partir desta lesão (PINDBORG, 1980). Dentre os distúrbios de maturação celular relacionados com a leucoplasia, pode-se observar acantose, hiperqueratose, displasia epitelial ou carcinoma (REGEZI; SCIUBBA, 1991; ARAÚJO, 1984). As formas leucoplásicas ou eritoplásicas provavelmente sejam estágios iniciais da carcinogênese (NEVILLE *et al.*, 1995).

No exame histopatológico de lesões cancerizáveis bucais, observam-se diferentes graus de alterações epiteliais que dificultam a determinação do risco de transformação maligna. Esse fato evidencia a necessidade de se desenvolverem e se utilizarem meios de diagnóstico de maior especificidade.

Técnicas quantitativas estruturais vêm sendo desenvolvidas, buscando critérios espe-

cíficos na avaliação de parâmetros celulares como a área nuclear, em tecidos e células normais ou alterados. Estas técnicas quantitativas podem detectar características que não sejam observadas na análise morfológica. Modificações nas células basais podem significar sérias implicações para o comportamento futuro da célula, incluindo transformação maligna (SHABANA; EL-LABBAN; LEE, 1987). A mensuração da sua área em lesões cancerizáveis pode ser um importante marcador prognóstico.

Valeri *et al.* (1967) estudaram as células da mucosa cérvico-uterina normal e com diagnóstico de carcinoma "in situ" e carcinoma invasor, e observaram um aumento proporcional na área nuclear e no conteúdo de DNA em células epiteliais dessa mucosa. O estudo mostra um progressivo aumento, partindo da mucosa normal, seguindo-se de carcinoma "in situ" e de carcinoma invasivo. Bohm, Sandritter (1975) também sugerem que durante a carcinogênese ocorre um aumento na síntese de DNA.

O conteúdo de DNA tem sido bastante utilizado para caracterizar a atividade de proliferação celular. Distribuições anormais de DNA tem sido demonstradas em lesões pré-malignas e malignas da mucosa bucal. Cowpe, Longmore (1981) realizaram um

estudo com objetivo de avaliar o conteúdo de DNA e a área nuclear de esfregaços citológicos da mucosa bucal. Os resultados obtidos fornecem valores de área nuclear de células de tecido normal e podem ser úteis para comparação em estudos futuros de mensurações de área nuclear em tecidos anormais. Os autores salientam, ainda, que a determinação da área nuclear, até o momento, não tem um valor específico de diagnóstico, pois não há uma relação clara entre área nuclear, conteúdo de DNA, aspecto clínico e histopatológico em neoplasias.

Tucker *et al.* (1994) avaliaram, através da coloração Feulgen, amostras coletadas de 20 pacientes, de 3 sítios, diagnosticados clinicamente como normais, ou histopatologicamente como pré-malignos ou malignos. As características morfométricas celulares foram mensuradas dos esfregaços de cada sítio, e os autores sugerem, que se pode distinguir claramente esfregaços de normais de anormais, mas não puderam distinguir esfregaços pré-malignos de malignos. Esta discriminação pôde ser obtida apenas da área citoplasmática. Os resultados sugerem, portanto, que uma combinação de conteúdo de DNA e mensuração morfométrica de esfregaços bucais pode ser utilizada como um método para detectar condições pré-ma-

\* Mestranda em Patologia Bucal pela Faculdade de Odontologia da UFRGS

\*\* Mestre em Patologia Bucal pela Faculdade de Odontologia da UFRGS

\*\*\* Professor Doutor das Disciplinas de Patologia Geral e Patologia Bucal, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da UFRGS

lignas e malignas.

White, Cood e Gohari (1985) avaliaram alterações do volume celular e nuclear durante a diferenciação epitelial em indução experimental de carcinogênese bucal com aplicação de técnicas morfométricas. Bochechas de hamsters tratadas com DMBA foram biopsiadas e designadas para grupos de hiperplasia, displasia e carcinoma epidermóide. Em todas as camadas do epitélio, os volumes celular, nuclear e citoplasmático foram menores no grupo controle, aumentando nos grupos experimentais. Concluiu-se que o aumento do volume celular e nuclear ocorre não somente durante a carcinogênese experimental, mas também em lesões benignas e malignas. Os autores sugerem, ainda, que com o advento dos sistemas computadorizados de análise de imagens, a mensuração de certas características estruturais em tecidos seccionados pode ter um papel importante no diagnóstico histopatológico.

Em estudo de indução de carcinogênese em ratos, Rich, Reade (1992) observaram em cortes de mucosa bucal de palato que a área nuclear das células basais foi aumentando na medida que o epitélio tornava-se displásico.

O tamanho e a forma de células da camada basal do epitélio bucal foram estudados em grupos de lesões brancas (queratose traumática, líquen plano, leucoplasia) em 2 grupos controles - mucosa normal e carcinoma epidermóide. Os resultados mostraram um progressivo aumento nas dimensões - área, perímetro e máximo diâmetro - do núcleo das células epiteliais em lesões brancas até o carcinoma, com diferenças consideráveis. O núcleo celular, no grupo do carcinoma, era 2 vezes maior que no grupo da mucosa normal. De acordo com os autores, o tamanho das células basais e do seu núcleo pode ser de valor diagnóstico para lesões com alto risco de transformação maligna (SHABANA; EL-LABBAN; LEE, 1987).

Sano (1989), realizou um estudo de avaliação morfométrica, através da análise de casos de epitélio não-displásico, de epitélio displásico e de carcinoma epidermóide. O autor comparou os resultados morfométricos e sugere que a morfometria pode ser utilizada na confirmação da severidade histopatológica de displasia epitelial.

Bryne *et al.* (1991) realizaram a mensuração do volume nuclear em 44 pacientes com carcinoma epidermóide bucal, e observaram que o volume nuclear não estava relacionado com o prognóstico desses pacientes. Os autores sugerem, ainda, que a evolução histopatológica do pleomorfismo nuclear inclui uma informação prognóstica variável.

Pacientes com líquen plano bucal podem apresentar um risco relativamente alto para

o subsequente desenvolvimento de câncer bucal. Pouco se sabe sobre os efeitos das inflamações crônicas no processo de transformação maligna. White, Jin, Yang (1994) avaliaram os volumes celular e nuclear de células da camada basal e espinhosa de epitélio normal, de epitélio associado com infiltrado inflamatório crônico não-específico e de lesões de líquen plano. Os volumes celular e nuclear de ambas as camadas foram similares nos grupos normal e inflamatório, mas foi quase o dobro no grupo do líquen plano. O efeito do infiltrado inflamatório no líquen plano e na lesão inflamatória, portanto, difere significativamente. Os autores concluíram que os volumes celular e nuclear podem servir como discriminadores potenciais entre lesões benignas e líquen plano.

De acordo com Aguiar (1996), o epitélio de revestimento da mucosa adjacente aos carcinomas epidermóides pode apresentar alterações morfológicas e histoquímicas representativas da carcinogênese precoce. A avaliação histopatológica dessas alterações é difícil e nem sempre é uma indicação confiável da progressão para o carcinoma invasivo. O autor estudou a expressão do PCNA, P53 AgNOR e Ki-67 no epitélio de revestimento da mucosa próximo a carcinomas epidermóides bucais, e não verificou nenhuma correlação desses marcadores com o grau de atipia epitelial.

Costa (1994) comparou morfologicamente células basais de 8 casos de displasia epitelial e 8 casos de hiperqueratose e observou que os volumes nucleares médios das células basais nas displasias epiteliais mostraram-se significativamente maiores que os das hiperqueratoses ( $p < 0,03$ ).

White, Jin, Yang (1997), em seu estudo de quantificação morfométrica de volume celular e nuclear de células da camada basal e espinhosa em diferentes lesões de bochecha humana, sugerem que a relação núcleo/citoplasma não tem valor como prognóstico de lesões com potencial de malignização. Para os autores, o aumento da proporção núcleo/citoplasma que pôde ser descrito quantitativamente é provavelmente devido ao aumento do hiperchromatismo nuclear, que pode ocasionar um aumento ilusório do tamanho do núcleo em relação ao citoplasma.

Com base nestes achados, pode-se sugerir que seja possível constatarem-se diferenças entre a área nuclear de células de carcinoma epidermóide, de leucoplasias que mostrem hiperqueratose com acantose e de epitélio normal. Sendo assim, o objetivo deste estudo é, através de uma análise morfométrica, avaliar a área nuclear das células da camada basal de epitélio normal, de lesões cancerizáveis e de carcinomas epidermóides, com auxílio de um Sistema Computadorizado de Processamento e Análise de Imagens.

## MATERIAIS E MÉTODOS

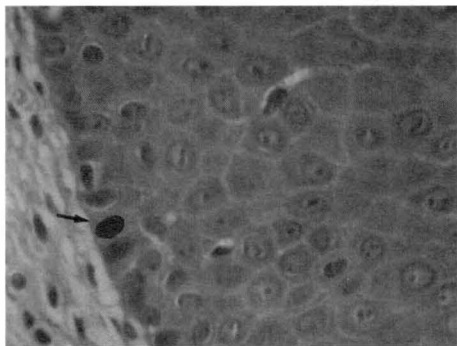
A amostra utilizada neste estudo foi constituída por 10 casos com diagnóstico histopatológico de hiperqueratose e acantose (diagnóstico clínico de leucoplasia) e por 10 casos com diagnóstico de carcinoma epidermóide que apresentavam uma porção de epitélio normal adjacente. Os cortes foram retirados do material incluído em parafina do arquivo do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da UFRGS e foram corados pela hematoxilina-eosina.

Foram selecionados aleatoriamente e analisados 3 campos em cada lâmina de hiperqueratose com acantose, 3 campos na área do tumor e 3 campos na área de epitélio normal adjacente ao mesmo em cada lâmina com diagnóstico de carcinoma epidermóide. Todas as células da camada basal nos casos de hiperqueratose com acantose e de epitélio normal foram mensuradas. Na região de carcinoma, todas as células presentes no campo foram mensuradas, devido à ruptura da membrana basal. Foram mensuradas, em média 15 células por campo microscópico em cada uma das lâminas. Foram excluídas as células que estavam em processo de mitose e as que se apresentavam sobrepostas, devido à dificuldade de visualização dos limites celulares.

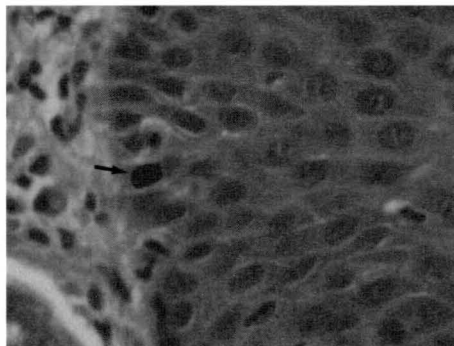
A metodologia de captura das imagens para avaliação quantitativa consistiu na seleção aleatória dos campos em um microscópio óptico marca Zeiss modelo Standart 20, com um aumento de 400x e transmissão da imagem via vídeo-câmera colorida marca JVC modelo TK C-620 para um monitor de vídeo TCÊ 17". A vídeo-câmera utilizada no estudo é da marca JVC modelo TK-C620 com as seguintes especificações: tipo (vídeo-câmera colorida), sistema de sinal (NTSC standard), tamanho da imagem (1/3' polegadas), resolução (470 linhas-horizontais), número de pixels 380,00 (771 (H) x 490(V)), sensor de imagem (CCD). A partir da imagem digitalizada, traçou-se o limite nuclear de cada célula por intermédio da utilização do Sistema de Processamento e Análise de Imagens - IMAGELAB® versão 2.3, instalado em um computador marca UNYSYS® - modelo Aquanta DX (processador Pentium MMX 200MHz, 64 MB de memória RAM, com o qual foi obtido o cálculo da área nuclear.

Foram obtidas as médias das áreas nucleares de cada campo, em seguida, a média das áreas nucleares de cada lâmina e, por fim, de cada uma das 3 regiões analisadas.

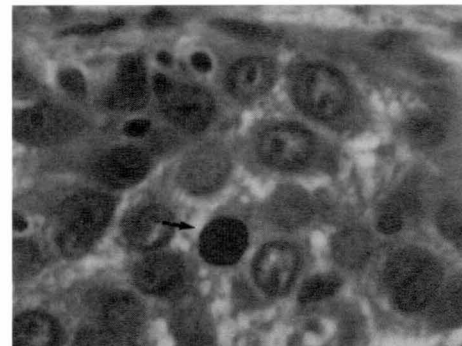
Os resultados foram analisados quantitativamente e as médias obtidas em cada uma das 3 regiões foram comparadas estatisticamente através do teste Análise de Variância (ANOVA) e do teste de comparações múltiplas de Tukey, ao nível de significância de  $p \leq 0,05$ .



1. Fotomicrografia de corte de epitélio adjacente à área tumoral, mostrando a mensuração da área nuclear de uma célula basal – 603.5000 pixels. Aumento de 400x e coloração de hematoxilina/eosina.



2. Fotomicrografia de corte de hiperqueratose com acantose, mostrando a mensuração da área nuclear de uma célula basal – 681.0000 pixels. Aumento de 400x e coloração de hematoxilina/eosina.



3. Fotomicrografia de corte de carcinoma epidermóide, mostrando a mensuração da área nuclear de uma célula tumoral – 1430.0000 pixels. Aumento de 400x e coloração de hematoxilina/eosina.

## RESULTADOS

Através dos resultados do teste Análise de Variância (ANOVA) e do teste de comparações múltiplas de Tukey, foram verificadas diferenças significativas entre as médias para os 3 grupos estudados.

Observou-se que o grupo do carcinoma epidermóide apresenta uma área nu-

clear maior que os demais grupos (Tabela 1).

A área nuclear do grupo de leucoplasia (hiperqueratose e acantose) é maior que no grupo de epitélio normal, porém não há diferença estatisticamente significativa para os valores de área nuclear entre os 2 grupos (Tabela 1).

## DISCUSSÃO

É importante considerar que seleção dos casos analisados neste estudo foi realizada de forma cronológica retrospectiva. Os casos foram selecionados do arquivo do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da UFRGS a partir dos registros referentes a abril de 2001 a outubro de 1993, desde que as lâminas com diagnóstico de carcinoma epidermóide apresentassem uma porção de epitélio normal adjacente.

As lesões cancerizáveis apresentam um risco variável de transformação maligna. Cerca de 3 a 6% dessas lesões evoluem para o carcinoma (PINDBORG, 1980). Devido a esta tendência à malignidade, são necessários estudos que busquem estabelecer parâmetros confiáveis para prever quais lesões leucoplásicas evoluiriam para o carcinoma. A avaliação do volume nuclear é uma possibilidade experimentada por alguns autores com resultados controversos (SHABANA; EL-LABBAN; LEE, 1987; SANO, 1989; WHITE; JIN; YANG, 1997).

Neste estudo demonstrou-se um aumento do volume nuclear das células basais em leucoplasias em que não eram observadas alterações displásicas (tabela 1). Este aumento não foi significativo do ponto de vista estatístico, comparando-se com o volume nuclear de células basais de epitélio normal, o que discorda dos achados de Shabana, EL-Labban, Lee (1987). O autor observou um aumento do volume das células basais em leucoplasias, mas não relata o padrão histopatológico dos cortes examinados.

As leucoplasias são caracterizadas histopatologicamente por variações no epitélio (ARAUJO, 1984). Neste estudo, foram considerados apenas os cortes que apresentaram diagnóstico histopatológico de hiperqueratose com acantose, a fim de padronizar-se a amostra. A não observação de diferenças significativas para os valores de área nuclear entre os grupos de lesão cancerizável e epitélio normal pode ser explicada pelos casos não apresentarem quadros de displasia epitelial, já que para White, Cood, Gohari (1985), o

**Tabela 1.** Resultados do teste Análise de Variância (ANOVA)

Grupo	Média	Desvio-Padrão
Epitélio normal	6.599.523,40 <sup>A</sup>	1.548.769,41
Lesão cancerizável	7.282.653,05 <sup>A</sup>	2.001.442,26
Carcinoma epidermóide	15.015.637,45 <sup>B</sup>	5.201.106,81

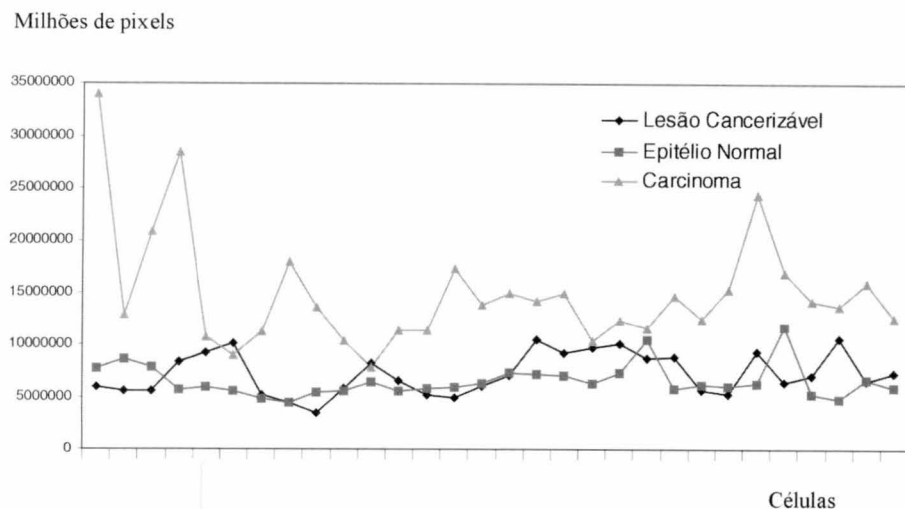
· Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ( $p \leq 0,05$ ).

· Unidade de medida: pixel.

Na Figura 1, observa-se a média da área nuclear de cada lâmina em cada um dos 3 grupos analisados e sua variância. Os valores da média da área nuclear em cada lâmina do grupo do carcinoma epidermóide mostram-se superiores aos demais grupos. O grupo do carcinoma

epidermóide apresentou um desvio padrão maior para os valores de área nuclear, seguido do grupo de lesão cancerizável e de epitélio normal, que é representado pela variância dos valores de médias de áreas nucleares em cada grupo.

**Figura 1.** Variância dos valores de área nuclear nos 3 grupos analisados



volume nuclear apresenta valores diferentes para displasia epitelial e epitélio normal.

Sabe-se que o mecanismo da carcinogênese inclui proliferação celular e invasão dos tecidos vizinhos (CAWSON; BINNIE; EVESON, 1995; NEVILLE *et al.*, 1995). Dentre os marcadores de proliferação celular, pode-se observar um aumento da área nuclear, que seria o reflexo morfológico da maior atividade proliferativa destas células. De acordo com o que sugerem Valeri *et al.* (1967) e Bohm, Sandritter (1975), o aumento da área nuclear no grupo do carcinoma epidermóide pode ser explicado ainda pelo aumento da síntese de DNA, fato sugerido neste estudo, com diferenças estatisticamente significativas. Outro aspecto constatado foi a grande variação do volume nas células dos carcinomas epidermóides. Este desvio padrão amplo seria o causado pela variação na ploidia das células tumorais malignas (WHO, 1997).

O aumento da área nuclear é um dos parâmetros microscópicos que o patologista utiliza em seu processo de decisão sobre a presença ou não de atipia celular em lesões cancerizáveis examinadas microscopicamente (NEVILLE *et al.*, 1995) e estes parâmetros são de algum modo subjetivos (SMITH; PINDBORG, 1974). Os programas de captura e análise de imagens permitem uma quantificação mais precisa, diminuindo o fator subjetivo e melhorando a acurácia da decisão de diagnóstico.

A área nuclear no grupo do carcinoma foi aproximadamente 2 vezes maior em comparação com os grupos de epitélio normal e lesão cancerizável, resultado compatível com o encontrado por Shabana, EL-Labban, Lee (1987) com relação ao carcinoma epidermóide. Os autores observaram, ainda, um aumento progressivo, da área nuclear das células epiteliais da mucosa normal, da leucoplasia e do carcinoma epidermóide, o que não é compatível com os resultados observados nesse estudo. Os grupos epitélio normal e lesão cancerizável não mostraram diferenças significativas para os valores de área nuclear. Esse fato pode ser explicado pela ausência de displasia epitelial nos cortes selecionados para avaliação, já que de acordo com Costa (1994), o volume médio nuclear das células basais de casos de displasia epitelial e hiperkeratose são diferentes quando comparados, sendo maiores nos casos de displasia epitelial.

Os valores de área nuclear das células basais em epitélio normal e lesão cancerizável (hiperkeratose com acantose) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

Sugere-se, então, que a avaliação exclusiva da área nuclear desta lesão não permite estabelecer seu potencial de transformação maligna, bem como seu prognóstico.

A quantificação dos parâmetros de displasia epitelial apresentados pela WHO (1997), utilizando-se os recursos eletrônicos de captura e análise de imagens, reflete uma área de pesquisa importante para a patologia.

### CONCLUSÃO

A área nuclear das células dos cortes de carcinoma epidermóide é maior (aproximadamente 2 vezes) que as áreas nucleares das células dos cortes de hiperkeratose com acantose e de epitélio normal.

### ABSTRACT

Quantitative microscopical techniques allow us to get specific information in the evaluation of microscopic parameters. These techniques can be used in morphological studies in injuries with potential malignant transformation, acting as an important prognostic marker. The aim of this study was, through a morphometric analysis, to evaluate the basal layer cell's nuclear area in precancerous lesions with hystopathological diagnosis of hiperkeratosis and acanthosis. The normal epithelium and epidermoid carcinoma were used as control. For this research, 10 cases with hiperkeratosis and acanthosis hystopathological diagnosis were selected, and 10 cases with squamous cell carcinoma hystopathological diagnosis already registered in the Oral Pathology Laboratory at Dentistry School of UFRGS. 3 microscopic fields were randomly selected in the slides of hiperkeratosis and acanthosis; 3 microscopic fields in the adjacent normal epithelium tumor area, and 3 microscopic fields in the central area of the tumor. The basal cell's nuclear area was measured through a computerized system of processing and analysis of images (IMAGELAB®). The results received by the ANOVA test showed the precancerous lesions and normal epithelium nuclear area did not differ statistically. It was also observed that the nuclear area in the squamous cell carcinoma group is greater than in the other groups. This indicates that the techniques of morphologic quantification did present the prognostic value established in our study.

### KEYWORDS

Oral mucosa; nuclear size; morphometry

### REFERÊNCIAS

AGUIAR, M. C. F. de. **Estudo Compa-**

**rativo das Proteínas p53, PCNA, Ki-67 e das Regiões Organizadoras Nucleolares (NORs) no Epitélio de Revestimento da Mucosa Próximo ao Carcinoma Epidermóide de Boca.** 110 f. 1996. Tese (Doutorado em Patologia Bucal)- Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ARAÚJO, N. S.; ARAÚJO, V. C. **Patologia Bucal.** Rio de Janeiro: Artes Médicas, 1984, 239p.

BOHM, N.; SANDRITTER, W. DNA in Human Tumors: a Cytomorphometric Study. **Curr. Top. Pathol.**, Berlim, v. 60, p. 151-219, 1975.

BRYNE, M. et al. Grading of Nuclear Pleomorphism in Oral Carcinomas. Higher Prognostic Value than Stereological Assessment of Nuclear Volume. **APMIS**, Copenhagen, v. 99, no. 4, p. 333-339, Apr. 1991.

CAWSON, R. A; BINNIE, W. H.; EVESON, J. W. **Atlas Colorido de Enfermidades da Boca: Correlações Clínicas e Patológicas.** 2.ed. Rio de Janeiro: Artes Médicas, 1995.

COSTA, A L. L. **Análise Morfológica e Morfométrica das Displasias Epiteliais e Hiperkeratose, da Mucosa Oral no Homem** 101 f. 1994. Tese (Mestrado em Patologia Bucal)- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Odontologia, Natal.

COWPE, J.; LONGMORE, R. B. Nuclear Area and Feulgen DNA Content of Normal Buccal Mucosa Smears. **J. Oral Pathol.**, Copenhagen, v. 10, p. 81-86, Mar. 1981.

LONGMORE, R. B.; COWPE, J. Nuclear Area and Feulgen DNA Content of Normal and Abnormal Oral Squames. **Anal. Quant. Cytol. Histol.**, St. Louis, v. 4, no. 1, p. 33-38, Mar. 1982.

NEVILLE, B. W. *et al.* Epithelial Pathology. In: \_\_\_\_\_. **Oral & Maxillofacial Pathology.** Philadelphia: W. B. Saunders, 1995. Cap. 10, p.259-312.

PINDBORG, J. J. **Oral Cancer and Precancer.** Bristol: J. Wright, 1980.

REGEZI, J. A.; SCIUBBA, J. J. **Patologia Bucal: Correlações Clinicopatológicas.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 390 p.

RICH, A. M.; READE, P. C. Epithelial Mesenchymal Interactions in Experimental Oral Mucosal Carcinogenesis: Establishing a Technique. **Int. J. Exp. Pathol.**, Oxford, v. 73, no. 3, p. 359-369, June 1992.

SANO, K. Morphometric and Immunohistochemical Investigation of Oral Epithelium Dysplasia and Squamous Cell Carcinoma. **Shika Kiso Igakkai Zasshi**, Tóquio, v. 31, no. 4, p. 436-452, Aug. 1989.

SHABANA, A. H.; EL - LABBAN, N. G.; LEE, K. W. Morphometric Analysis of Basal Cell Layer in Oral Premalignant White Lesions and Squamous Cell Carcinoma. **J. Clin. Pathol.**, London, v. 40, no. 4, p. 454-458, Apr. 1987.

SMITH, C.; PINDBORG, J. J. **Histological Grading of Oral Epithelial Atypia by the Use of Photographic Standards.** Bethesda: National Institute of Health, [1974], 33f.

TUCKER, J. H.; COWPE, J. G.; OGDEN, G. R. Nuclear DNA Content and Morphometric Characteristics of Normal, Premalignant and Malignant Oral Smears. **Anal. Cell Pathol.**, Amsterdam, v. 6, no. 2, p. 117-128, Feb. 1994.

VALERI, V. et al. Relationship Between Cell Nuclear Volume and Desoxyribonucleic Acid of Cells of Normal Epithelium, of Carcinoma In-Situ and of Invasive Carcinoma of the Uterine Cervix. **Acta Cytol.**, St. Louis, v. 11, no. 6, p. 488-496, Nov-Dec. 1967.

WHITE, F. H.; COOD, R. M.; GOHARI, K. An Ultrastructural Morphometric Study of Cellular and Nuclear Volume Alterations During Experimental Oral Carcinogenesis. **J. Submicrosc. Cytol.**, Italy, v. 17, no. 4, p. 481-493, Oct. 1985.

WHITE, F. H.; JIN, Y.; YANG, L. An Evaluation of the Role of Nuclear Cytoplasmic Ratios and Nuclear Volume Densities as Diagnostic Indicators in Metaplastic, Dysplastic and Neoplastic

Lesions of the Human Cheek. **Histol. Histopathol.**, Murcia, v. 12, no. 1, p. 69-77, Jan. 1997.

WHITE, F. H.; JIN, Y.; YANG, L. Quantitative Cellular and Nuclear Volumetric Alterations in Epithelium from Lichen Planus Lesions of Human Buccal Mucosa. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 23, no. 5, p. 205-208, May 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. INTERNATIONAL HISTOLOGICAL CLASSIFICATION OF TUMORS. **Histological Typing of Cancer and Precancer of the Oral Mucosa.** 2. ed, Springer, p.11-12 e 26, 1997.

Endereço para Correspondência:  
Ramiro Barcelos, 2492 sala 503  
Porto Alegre - RS  
CEP: 90035-003  
Telefone: (51) 3316-5011  
E-mail: pantelis@ufrgs.br