
O uso da citologia esfoliativa no diagnóstico precoce de alterações celulares induzidas pelo uso do fumo

The use of exfoliative cytology in the early diagnosis of cellular changes induced by smoking

Letícia Maria Correa¹, Linaena Mércy da Silva¹

¹Centro Universitário de Lavras- Lavras-MG, Brasil.

RESUMO

O câncer bucal é causado principalmente pelo uso constante de tabaco (fumo), sendo o álcool um fator secundário e sinérgico. O meio mais eficiente para reduzir a mortalidade e morbidade da doença é a realização do diagnóstico precoce das alterações celulares. Para isso, várias técnicas podem ser usadas, dentre elas a citologia esfoliativa associada à coloração de Papanicolaou. Assim, o objetivo principal desse trabalho foi verificar a eficácia da técnica da citologia esfoliativa na detecção precoce de alterações celulares induzidas pelo uso contínuo do fumo. Foram selecionados aleatoriamente 61 pacientes atendidos na clínica de Odontologia do Centro Universitário de Lavras (Unilavras) que foram separados em dois grupos experimentais: grupo 01- Pacientes do sexo masculino, sem nenhuma lesão bucal que nunca apresentou história de uso de fumo/tabaco e grupo 02- Pacientes do sexo masculino sem nenhuma lesão bucal que tem história de uso regular de tabaco/fumo. Foram feitas coletas da mucosa jugal e borda lateral de língua bilateralmente (lado esquerdo e lado direito) usando a técnica de citologia esfoliativa. O material coletado foi corado pela técnica de Papanicolaou e parâmetros celulares e nucleares foram utilizados para estabelecer a presença ou ausência de alterações celulares. Foi realizada a citologia esfoliativa da mucosa jugal de 40 pacientes, sendo 9 fumantes e 31 não fumantes. Também foi realizada a citologia esfoliativa da borda lateral da língua de 21 pacientes, sendo 7 fumantes e 14 não fumantes. Na avaliação citológica, foi observado que a maioria dos pacientes fumantes apresentaram a classificação II de Papanicolaou em ambas as localizações. Assim, foi observada forte correlação entre a quantidade de fumo usado pelo paciente e os achados da citologia esfoliativa.

Palavras-chave: Câncer bucal, Citologia, Teste de Papanicolaou, Tabaco

ABSTRACT

Oral cancer is caused mainly by the constant use of tobacco (tobacco) and alcohol acts as a secondary and synergistic factor. The most efficient way to reduce mortality and morbidity of the disease is the early diagnosis of cellular changes. For this, several techniques can be used, among them the exfoliative cytology associated with Papanicolaou staining. Thus, the main objective was to verify the efficacy of the exfoliative cytology technique in the early detection of cellular changes induced by the continuous use of smoke. Sixty-one patients attended at the Odontology Clinic of the University Center of Lavras (Unilavras) were randomly selected and separated into two experimental groups: group 01- Male patients, with no oral lesion who never had a history of tobacco / tobacco use and group 02- Male patients with no oral lesions who have a history of regular tobacco / smoking use. Collections of the jugal mucosa and lateral border (left and right side) of the tongue were done using the exfoliative cytology technique. The collected material was stained by the Papanicolaou technique and cellular and nuclear parameters were used to establish the presence or absence of cellular alterations. Exfoliative cytology of the jugal mucosa was performed in 40 patients, 9 smokers and 31 non-smokers. Exfoliative cytology of the lateral border of the tongue was also performed in 21 patients, 7 smokers and 14 non-smokers. In the cytological evaluation, it was observed that the majority of the smoking patients presented the classification of Papanicolaou II in both locations. Thus, a strong correlation was observed between the amount of smoke used by the patient and the exfoliative cytology findings.

Keywords: Mouth Neoplasms, exfoliative cytology, Papanicolaou Test , Tobacco

Introdução

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

O câncer bucal representa 2% de todos os cânceres e aproximadamente 90% dos cânceres de boca são do tipo carcinoma de células escamosas. O carcinoma de células escamosas é o oitavo tipo de câncer mais prevalente no sexo masculino e o quinto mais prevalente no sexo feminino (TAGHAVI & YAZDI, 2015). Os fatores de riscos mais bem conhecidos para essa doença são o uso excessivo de álcool e fumo que atuam sinergicamente (SAMAN, 2012; MAHMOUDI *et al.*, 2015).

A taxa de sobrevida de 5 anos dos pacientes com carcinoma de células escamosas não evoluiu nas últimas três décadas e permaneceu em torno de 50%. No entanto, quando a lesão é diagnosticada no estágio I a taxa de sobrevida sobe para 80%, aproximadamente. Quando o diagnóstico é feito no estágio II a taxa de sobrevida cai para 60% e quando é feito no estágio III e IV a taxa de sobrevida cai para em torno de 30%. Os principais locais de acometimento do carcinoma de células escamosas são: a mucosa labial e bucal; os dois terços posteriores da língua; a região retro-molar; assoalho bucal; o palato e a gengiva (OMAR, 2015).

O carcinoma de células escamosas pode se originar de lesões ou condições pré-malignas tais como: a leucoplasia; a eritroplasia; o líquen plano oral; a estomatite nicotínica; a queratose induzida pelo tabaco e a fibrose submucosa. A leucoplasia é a condição clínica mais comum, tendo uma prevalência mundial de 2,6% (GONZALEZ-PEREZ *et al.*, 2010).

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

Para o diagnóstico dessas alterações o padrão ouro é a biópsia seguida de exame histopatológico do tecido. No entanto, a biópsia tem as suas limitações por ser uma

técnica invasiva o que dificulta a sua execução pelos profissionais, gerando implicações psicológicas para alguns pacientes (SHASHIKALA *et al.*, 2015). Atualmente, tem se aumentado o interesse por técnicas não invasivas indolores para o diagnóstico das alterações precoce do câncer. Isso facilita e aumenta a frequência dos exames feitos nos pacientes (KAZANOWSKA; HAŁOŃ; RADWAN-OCZKO, 2014).

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

As amostras para a citologia oral podem ser obtidas da mucosa jugal, palato duro e mole, borda lateral da língua, soalho bucal e lábio inferior (KAZANOWSKA; HAŁOŃ; RADWAN-OCZKO, 2014, MULKI *et al.*, 2015).

A citologia esfoliativa oral é um método mais bem tolerado pelo paciente que a biópsia, e por isso deveria ser usada em programas de triagem para o diagnóstico precoce de câncer bucal (NADAF *et al.*, 2014).

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

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

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

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

De acordo com a morfologia, podem-se definir três tipos celulares na cavidade bucal: as células parabasais como forma oval e núcleo em posição central (raramente encontradas em esfregaços bucais normais); as células intermediárias com predominância do citoplasma sobre o núcleo e cromatina granular, apresentam coloração cianófila; as células superficiais com citoplasma amplo e achatados e núcleo picnótico, exibindo coloração eosinofílica e as células anucleadas com citoplasma achatado e sem núcleo (SOUSA *et al.*, 2014; TAGHAVI & YAZDI, 2015). Em pacientes expostos à agentes carcinogênicos tais como o fumo, o padrão de maturação celular pode estar alterado. Estudos demonstram que pacientes fumantes apresentam número aumentado de células anucleadas em relação à pacientes não fumantes, indicando uma maior ceratinização da mucosa bucal de pacientes fumantes. Essa observação também pode indicar aumento de alterações metaplásicas e perda de adesividade celular (SANKHLA *et al.*, 2014; VERMA *et al.*, 2015).

A citologia esfoliativa ainda é pouca usada no rastreamento do câncer bucal, justificando assim trabalhos que provem a eficácia desse método. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a mucosa bucal de pacientes fumantes e não fumantes através da citologia esfoliativa e buscar parâmetros citológicos para a detecção precoce das alterações celulares induzidas pelo fumo.

Material e Métodos

Este estudo foi submetido ao comitê de ética em pesquisa em humanos (CEP) do Centro Universitário de Lavras (Unilavras) obedecendo a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e aprovado segundo parecer consubstanciado número 1.472.044. Para a realização desta pesquisa foram selecionados aleatoriamente pacientes do sexo masculino atendidos nas Clínicas Odontológicas do Centro Universitário de Lavras (Unilavras). Foram selecionados aleatoriamente 61 pacientes, divididos em 2 grupos experimentais: grupo 01- Pacientes fumantes (n=16), e grupo 02- Pacientes não fumantes (n=45). Dos 61 pacientes selecionados, 40 tiveram amostras coletadas da mucosa jugal e 21 tiveram amostras coletadas da borda lateral da língua.

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

Amostras da mucosa foram feitas da mucosa jugal e da borda lateral da língua (2/3 posteriores) bilateralmente (lado esquerdo e lado direito) usando a técnica de citologia esfoliativa. As lâminas foram coradas usando a técnica de Papanicolaou. Os seguintes critérios de malignidade foram usados:

- ✓ As células de uma mesma camada apresentam afinidade tintorial e densidade citoplasmática variáveis;
- ✓ Células de formato anômalos (células em fibra, em girino, em raquete);
- ✓ Variam em tamanho e forma;
- ✓ Vacuolizações atípicas;
- ✓ Cariomegalia com presença de cromatinas gigantes e anômalas;
- ✓ Hiperchromasia com cromatina grosseira e irregular.

Os dados foram avaliados, estatisticamente, através dos testes de Correlação de Pearson e de Fisher, considerando $p < 0,05\%$.

Resultados

Dados Pacientes

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

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

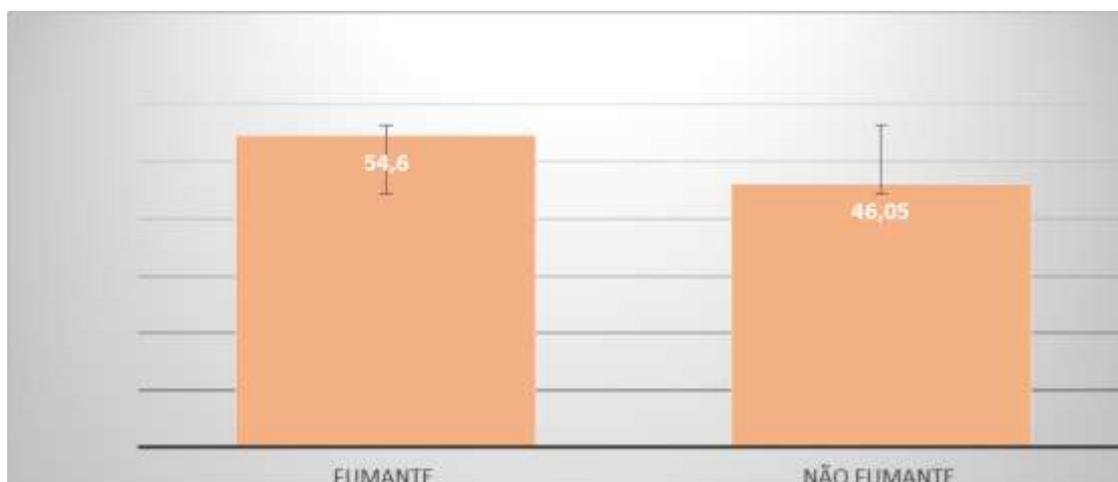
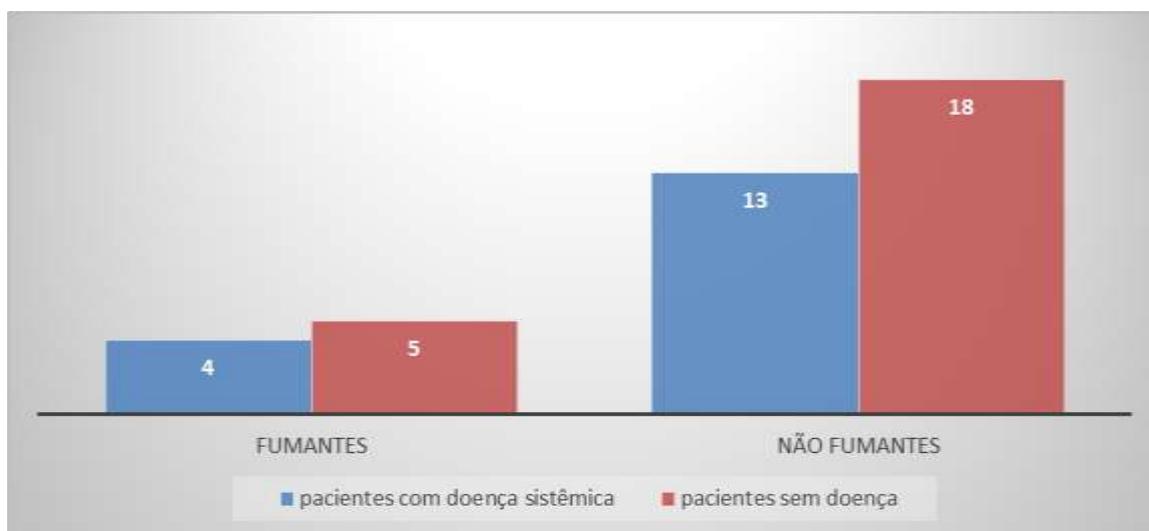


Gráfico 02- Pacientes portadores ou não de doenças sistêmicas com amostras coletadas na mucosa jugal.



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

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

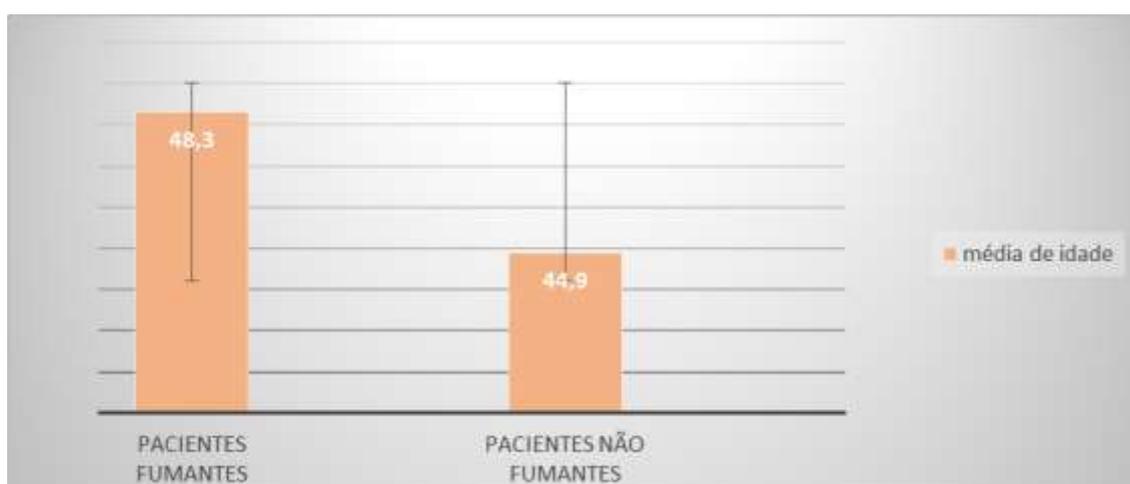
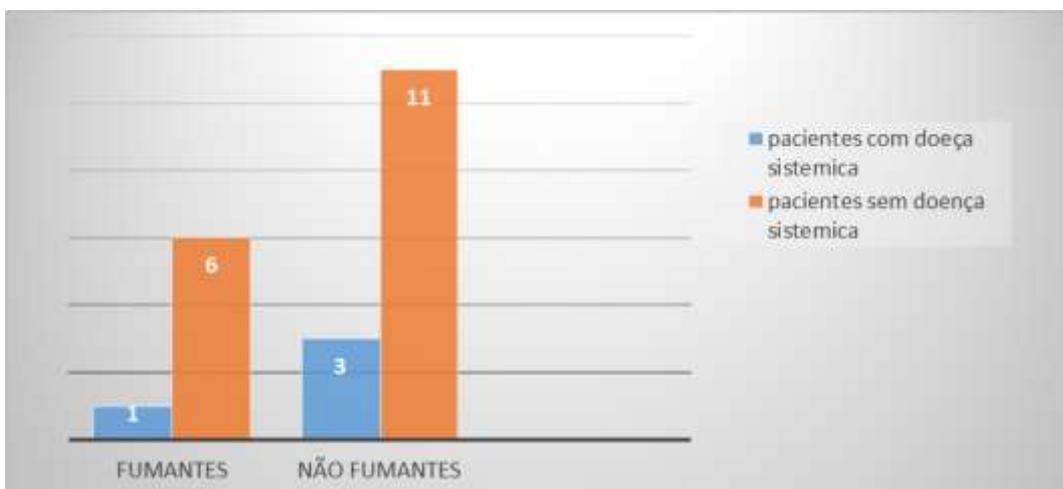
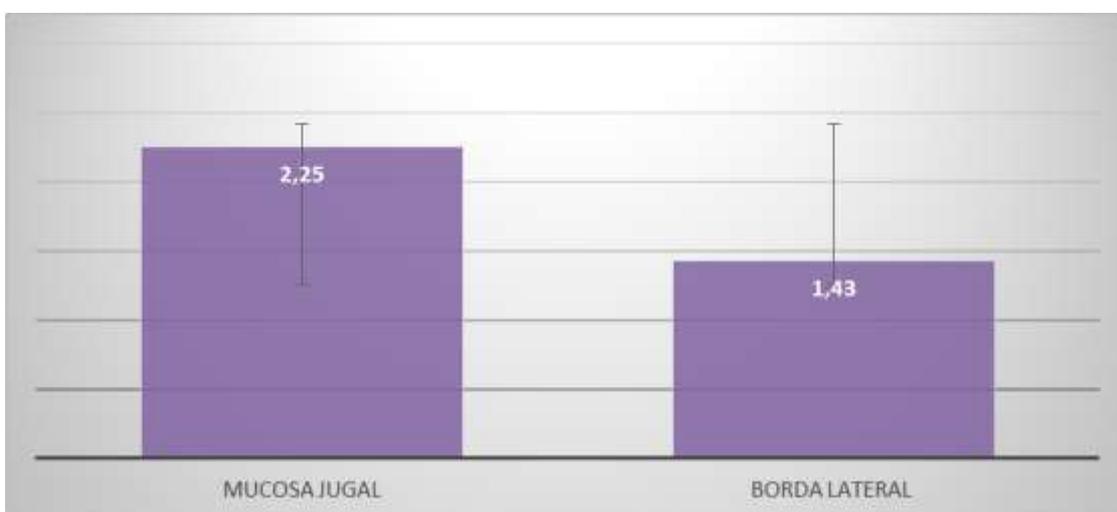


Gráfico 4- Pacientes com ou sem doença sistêmica com amostras coletadas na borda lateral da língua.



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

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



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

Tabela 01- Classificação citológica de Papanicolau para pacientes fumantes com amostras coletadas na mucosa jugal.

N. Paciente	Idade	Quantidade fumo(maço)	Classificação citológica
1	70	2	2
2	58	1	1
3	56	3,5	2
4	62	2,5	2
5	52	1,5	1
6	35	1	1
7	48	1	1
8	57	5,5	2
9	53	3	5

Tabela 02- Classificação citológica de Papanicolau para pacientes fumantes com amostras coletadas na borda lateral de língua.

N. Paciente	Idade	Quantidade fumo(maço)	Classificação citológica
1	45	1	1
2	50	1	1
3	30	1	1
4	62	1	1
5	65	4	2
6	60	1	1
7	26	1	1

Para verificar a correlação entre as variáveis (idade, quantidade de fumo e classificação citológica) foram utilizados os testes de Correlação de Pearson e de Fisher. Para os pacientes com amostras coletadas na borda lateral de língua o teste de correlação demonstrou forte associação entre a classificação citológica e a quantidade de fumo usado pelo paciente ($r=1$). Nos pacientes com amostras coletadas na mucosa jugal foi observada forte associação ($r=0,76$) entre a quantidade de fumo usado pelo paciente e a classificação citológica. Não foi possível observar nenhuma associação entre a idade e a classificação citológica. Também não foi possível verificar associação entre a presença ou ausência de doenças sistêmicas e uso de medicamentos com os achados citológicos.

Discussão

Nesse trabalho foi realizada a técnica de citologia esfoliativa seguida da coloração de Papanicolau para estudar as alterações celulares precoces do câncer de boca. Vários trabalhos científicos demonstram que a busca por alterações precoces induzidas pelo fumo são importantes no processo de prevenção e diagnóstico precoce dessa doença (EDRIS *et al.*, 2011; VERMA *et al.* 2014; MAHMOUDI *et al.*, 2015). Várias técnicas podem ser utilizadas para detectar essas alterações celulares (SAMAN, 2012). Nesse trabalho foi possível verificar que a execução da técnica de citologia esfoliativa não trouxe nenhum desconforto ao paciente, é rápida e de baixo custo, o que auxilia no uso rotineiro da mesma. Essa percepção está de acordo com vários outros estudos (SAHAY *et al.*, 2017; BALDAWA *et al.*, 2016). Edris *et al.* (2011) realizaram um estudo onde foi investigado a acurácia da citologia esfoliativa no diagnóstico precoce de carcinoma de células escamosas. Os autores avaliaram 100 pacientes, 50 sem nenhuma lesão na cavidade bucal e 50 com diagnóstico de lesões bucais (leucoplasias, carcinoma de células escamosas e lesões benignas). Os autores verificaram uma acurácia de 92% da citologia esfoliativa para o diagnóstico de carcinoma de células escamosas, concluindo que essa técnica que é barata e de fácil execução pode ser bastante útil para o diagnóstico precoce de lesões malignas e pré-malignas.

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

As amostras da mucosa jugal foram coradas e classificadas através da técnica de Papanicolau. Em 1941, George N. Papanicolaou criou a primeira terminologia (classe I, II, III, IV e V) para classificar células normais e diferentes tipos de alterações citológicas, sendo uma metodologia quase que sempre utilizada para diagnóstico de alterações cervicais (AGUIAR *et al.*, 2011). No entanto, vários estudos tem utilizado a

citologia esfoliativa e a técnica de Papanicolau para análises de alterações bucais. Verma *et al.* (2014) usaram a citologia esfoliativa através da citomorfometria para verificar as diferenças nucleares entre amostras de carcinoma de células escamosas, displasia e mucosa normal de 90 pacientes. Os autores verificaram que a área do núcleo aumentou significativamente nas displasias e carcinomas quando comparados com as amostras da mucosa normal, demonstrando que esses critérios podem ser utilizados para acompanhar ou prever as lesões pré-malignas.

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

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

Assim, acredita-se que a citologia esfoliativa deve ser implementada na rotina da clínica de diagnóstico oral e pode ser bastante útil para a detecção de alterações precoces do câncer.

Conclusões

A técnica de citologia esfoliativa é barata e de fácil implementação na rotina da clínica de diagnóstico oral e houve forte associação entre a quantidade de fumo usada pelo paciente e os achados citológicos das amostras coletadas na mucosa jugal.

Referências

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

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

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

BÖCKING, A. et al. Role of brush biopsy and DNA cytometry for prevention, diagnosis, therapy, and follow up care of oral cancer. *Journal of Oncology*, Hindawi Publishing Corporation, v. 2011, 2010.

CARRERAS-TORRAS, C.; GAY-ESCODA, C. Techniques for early diagnosis of oral squamous cell carcinoma: Systematic review. *Medicina oral, patologia oral y cirugía bucal*, v. 20, n. 3, p.305–15, 2014.

EDRIS, Ali Mahmoud M.; AHMED, Hussain Gadelkarim; MOHAMMED, Elneel Ahmed. Accuracy of oral exfoliative cytology in Sudanese patients undergoing oral biopsy. *RSBO (Online)*, v. 8, n. 3, p. 255-260, 2011.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

SHASHIKALA, R. et al. Role of micronucleus in oral exfoliative cytology. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, Medknow Publications, v.7, n.Suppl2, p.S409, 2015.

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

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

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

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

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

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

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

Agradecimentos: Ao CNPq pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica e ao Centro Univeristário de Lavras.

Endereço para correspondência: le_correac@hotmail.com