

# USO DA CULTURA DE MUCOSA ESCAMOSA HUMANA NO TRATAMENTO DE LESÕES JUGAIS PRÉ-CANCEROSAS EXTENSAS

## THE USE OF HUMAN SQUAMOUS MUCOSA CULTURE IN THE TREATMENT OF EXTENSIVE BUCCAL PREMALIGNANT LESIONS

Lucas Nardelli Monteiro de Castro<sup>1</sup>  
Patrícia Serricella<sup>2</sup>  
Antônio Augusto Fauci Rodrigues<sup>3</sup>  
Christina Maeda Takiya<sup>4</sup>  
Alcino Lázaro da Silva, TCBC-MG<sup>5</sup>  
Radovan Borojevic<sup>6</sup>

---

**RESUMO: Objetivo:** Os autores propõem uma nova abordagem no tratamento de lesões extensas de natureza pré-cancerosa da mucosa jugal, utilizando enxerto de mucosa escamosa autógena cultivada em laboratório. **Método:** O enxerto é aplicado no mesmo tempo cirúrgico da ressecção da lesão original. Foram operados cinco pacientes, os quais receberam acompanhamento pós-operatório, sendo submetidos à biópsia de controle no 90º dia. A avaliação da integração do enxerto com o leito receptor foi realizada utilizando-se critérios clínicos e morfológicos, incluindo microscopia óptica e eletrônica. **Resultados:** O estudo anatomopatológico com microscopia óptica e eletrônica dos cinco pacientes mostrou haver integração do enxerto da mucosa cultivada com o leito receptor. As células da mucosa cultivada formam camadas que se organizam e se diferenciam à semelhança da zona doadora. À microscopia eletrônica a mucosa enxertada apresentava lâmina basal com descontinuidades focais, presença de hemidesmosomas e fibrilas de ancoragem. **Conclusões:** Os resultados demonstraram que a técnica é oportuna e viável para o tratamento de lesões pré-cancerosas, outrora consideradas irressecáveis pela extensão e pode ser considerada uma possibilidade real para o tratamento cirúrgico definitivo das mesmas.

**Descritores:** Mucosa escamosa; Ceratinócitos; Cultura de mucosa; Enxerto de mucosa.

---

## INTRODUÇÃO

O câncer da mucosa bucal é problema relevante em saúde pública no Brasil com expressivos índices de morbimortalidade. Quase sempre, suas formas precursoras e ou incipientes são reveladas como lesões pré-cancerosas (LPC), acompanhadas ou não de displasia. As formas mais comuns de LPC encontradas na mucosa escamosa são as leucoplasias, as eritroplasias e as formas mistas leucoeritroplásicas<sup>1-3</sup>. As manifestações bucais do líquen plano e algumas de suas variantes histomorfológicas, têm sido usualmente descritas como pré-cancerosas<sup>1,4,5</sup>. Há relatos na

literatura que demonstram íntima associação entre carcinomas de células escamosas em sítios de lesões de aspecto liquenóide<sup>5</sup>. Embora não seja bem conhecida a patogênese dessas condições, é notória a correlação entre a ocorrência de lesões leuco e eritroplásicas e certos hábitos, tais como o tabagismo e o alcoolismo severos<sup>6</sup>.

Há controvérsias no tocante ao tratamento das LPC. Têm sido descritas, dependendo da morfologia das lesões elementares, a exérese convencional, criocirurgia e cirurgia com *laser* de CO<sub>2</sub>. Nos casos de lesões pouco extensas a exérese, sempre que viável, é a conduta terapêutica mais indicada. Considerando-se, entretanto, a ocorrência de

- 
1. Professor e Chefe do Serviço de Cirurgia Maxilofacial HU/UFJF
  2. Biotecnóloga do BCRJ/PABCAM — HU/UFRJ
  3. Professor e Chefe do Lab. Anatomia Patológica FO/UFJF
  4. Professora do Dept. Histologia e Embriologia, ICB/UFRJ
  5. Professor do Dept. Cir. Fac. Medicina UFMG e Titular do CBC
  6. Chefe do Dept. de Histologia e Embriologia do ICB/UFRJ, Diretor do BCRJ

Recebido em 12/11/2001

Aceito para publicação em 10/06/2002

Trabalho realizado no Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU/UFJF).

lesões extensas e localizadas em áreas de risco, como a mucosa jugal, a opção cirúrgica quase nunca é indicada. Isso é devido à dificuldade em promover-se a reconstrução do defeito decorrente da ressecção lesional, pela escassez de tecido viável circunjacente.

Apresentamos uma alternativa terapêutica cirúrgica definitiva, a partir do emprego de mucosa humana autógena cultivada.

O primeiro relato da obtenção *in vitro* de uma monocamada de ceratinócitos deve-se a Rheinwald e Green<sup>7</sup>. Seu emprego mais freqüente tem sido no tratamento de pacientes vítimas de queimaduras cutâneas extensas<sup>8</sup>. Vem sendo, ainda, utilizada em otorrinolaringologia, no forramento de cavidades mastóides após curetagens<sup>9</sup>. No que concerne ao cultivo *in vitro* de mucosa escamosa e a partir de resultados obtidos em modelos caninos, a técnica foi recomendada para uso em humanos<sup>10</sup>. O primeiro trabalho sobre a aplicação clínica de epitélio bucal humano autógeno cultivado descreveu sua aplicação sobre o periosteio mandibular, na reconstrução de defeitos da gengiva inserida<sup>11</sup>. Ueda e cols.<sup>12</sup> realizaram enxertos de mucosa autógena cultivada em três pacientes portadores de lábio leporino e tumores benignos dos maxilares. Concluíram que a revascularização do enxerto iniciava-se entre o terceiro e o quinto dias pós-operatórios, sendo completada no sétimo dia. Langdon e cols.<sup>13</sup> utilizaram a cultura de ceratinócitos, com bons resultados, no tratamento de pacientes portadores de fissuras labiopalatinas e em outros portadores de lesões cancerosas. Raghoobar e cols.<sup>14</sup>, a partir de amostras de mucosa humana colhidas do palato duro e cultivadas *in vitro*, realizaram enxerto para correção de defeitos decorrentes de vestibuloplastias. No Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), Borojevic e cols.<sup>15</sup> padronizaram a cultura de ceratinócitos cutâneos *in vitro*, aplicando-a à cirurgia plástica<sup>16</sup>. O método foi padronizado em seguida para cultivar e obter mucosa bucal humana, conforme a técnica descrita no presente trabalho. O enxerto da mucosa é precedido pela exérese da lesão original, realizada com margens cirúrgicas amplas, e, então, fixado no leito receptor. Tal procedimento elimina os inconvenientes da espera da evolução comportamental imprevisível da LPC.

## MÉTODOS

O estudo foi realizado após a aprovação do protocolo pela Comissão de Ética em Pesquisa Humana do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU/UFJF).

Foram selecionados cinco pacientes, todos eles portadores de LPC jugais, com dimensões que as incluíam no grupo de lesões extensas que usualmente não são tratadas pela ressecção. Dois dos pacientes eram do sexo masculino e três do sexo feminino. Somente os homens apresentavam hábito de tabagismo e alcoolismo, sendo exatamente os dois pacientes que apresentavam as maiores lesões. Dos dois pacientes tabagistas e etilistas, um deles (paciente C) consumia, em média, de 30 cigarros/dia, há 36 anos, além de ingerir diariamente cerca de 600ml de bebida alcoólica fermentada. Esse paciente foi quem apresentou a maior de todas as LPC tratadas. O tempo médio de evolução das lesões foi de 2,8 anos, com variação entre um e cinco anos. A média de idade situou-se em 40,2 anos, variando entre 33 anos e 56 anos.

A área ressecada (incluindo margem de segurança) foi, em média, de 12,6cm<sup>2</sup>, sendo a menor delas de sete centímetros quadrados e, a maior, de 16cm<sup>2</sup> (Quadro 1).

## TÉCNICA

A obtenção da cultura iniciava-se com a remoção de fragmento de aproximadamente um centímetro quadrado de mucosa hígida do paciente, da região próxima à lesão. Isto se fazia após criteriosa anti-sepsia, com solução de triclosan antisséptico (Soapex<sup>®</sup>) para a mucosa e com álcool a 70% para a pele, e sob anestesia locorregional, evitando-se infiltração no local da coleta. O fragmento era retirado em forma elíptica, sendo transportado para o laboratório em meio de cultura de Eagle, modificado por Dulbecco (DMEM) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA), com 10% de soro fetal bovino (FBS) (Cultilab, Campinas, SP, Brasil), 5µg/ml de ciprofloxacina CIPRO<sup>®</sup> (Biolab Farmacêutica Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e 1µg/ml de anfotericina B (Eurofarma Laboratórios Ltda., São Paulo, SP, Brasil), em tubo plástico estéril, selado através da aplicação de parafilme. Tal tubo plástico, contendo o ma-

**Quadro 1**

Quadro demonstrativo da casuística segundo dados clínicos e anatomopatológicos

Paciente	Sexo	Idade	LPC	Evolução (anos)	Hábitos	Localização anatômica	Ressecção (cm <sup>2</sup> )
A	M	40	LP	2	Et + tab	jugal D	12 cm <sup>2</sup>
B	F	37	LP	3	-	jugal E	8 cm <sup>2</sup>
C	M	56	L	5	Et + tab	jugal D	16 cm <sup>2</sup>
D	F	33	L/E	1	-	jugal E	7 cm <sup>2</sup>
E	F	34	L	3	-	jugal E	10 cm <sup>2</sup>

(LP) líquen plano; (L) leucoplasia; (L/E) leucoeritroplasia; (Et) etilismo e (tab) tabagismo

terial biológico, era acondicionado em recipiente de isopor, sob resfriamento com blocos de gelo, de tal modo que não pudesse tombar, evitando, assim, que a solução de DMEM entrasse em contato com a tampa do frasco plástico, o que poderia levar à contaminação.

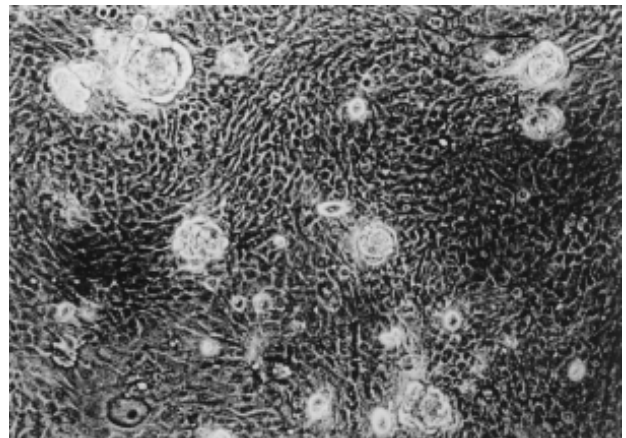
Esse frasco era então enviado para o PABCAM/BCRJ da UFRJ, onde o tecido colhido era fragmentado e digerido enzimaticamente, como descrever-se-á adiante. As células vivas obtidas eram cultivadas em condições que favorecessem o crescimento de ceratinócitos, ao mesmo tempo que inibiam a proliferação de fibroblastos. Removia-se o máximo possível da lâmina própria e tecido conjuntivo subjacente, e os fragmentos contendo mucosa eram clivados com uso de bisturi com lâmina descartável. Essa última porção era, a seguir, submetida a dissociação enzimática, com 0,3% de tripsina (Sigma) em solução salina balanceada, sem sais de cálcio e magnésio (BSS-CMF), durante 18h a 20h, a 4°C, seguida de incubação em nova solução, durante 40min, a 37°C, com agitação orbital. As células mucosas, agora separadas umas das outras, eram semeadas em garrafas de cultura (Nunc, Roskilde, Denmark),  $1,2 \times 10^6$  a  $1,8 \times 10^6$  células/25cm<sup>2</sup>, contendo 3T3 (células murinas embrionárias) como camada alimentadora. A linhagem celular 3T3, obtida no Banco de Células do Rio de Janeiro, era previamente cultivada até atingir confluência, quando era irradiada (5.000cGy), de forma a não mais proliferar.

As culturas eram mantidas por 10 dias em meio para ceratinócitos: meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), contendo HAM F12 (3:1), suplementado com 5mg/L de insulina, 4mM de L-glutamina, 0,4mg/ml de hidrocortisona,  $10^{-10}$ M de toxina colérica, 5mg/l de transferrina,  $2 \times 10^{-9}$ M de T3, 10ng/ml de fator de crescimento epidérmico (todos da Sigma), e 20% de soro fetal bovino (Cultilab), a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. O crescimento celular era monitorizado ao microscópio invertido com contraste de fase. O meio de cultura era trocado a cada dois ou três dias. A confluência celular era atingida em um período de nove dias (Figura 1). A camada de mucosa era descolada da garrafa, com o uso de 1,2U/ml de dispase em DMEM (Sigma) por 60 minutos a 37°C. Tal camada era então lavada com solução salina balanceada (BSS), fixada sobre gaze embebida em petrolato (Adaptic®), utilizando monofilamento de náilon 4-0, sendo então transportada para o centro cirúrgico em placas de Petri refrigeradas e utilizadas para o enxerto.

As cirurgias foram realizadas em um prazo de quatro a seis horas. Os limites da ressecção pretendida foram demarcados com solução de azul de metileno, com margem de segurança de, pelo menos, cinco milímetros. A complementação da hemostasia, sempre que necessário, deu-se com bisturi de corrente bipolar. O enxerto foi fixado nos limites da margem da ressecção, através de monofilamento de náilon 4-0. A fim de evitarmos o movimento do mesmo, fixamo-lo através de dois botões de náilon, sendo um na região jugal (intrabucal) e outro na região bucinadora (extrabucal), com área de contato protegida por gaze vaselinada, e fixados com monofilamento de náilon 2-0.

No quarto dia após a operação removemos o botão de náilon e mantivemos a gaze de proteção do enxerto de mucosa. Tal gaze foi removida sempre no sétimo dia pós-operatório.

A observação foi realizada semanalmente durante os primeiros 30 dias de pós-operatório. A partir daí os pacientes foram examinados a cada duas semanas, até completar três meses, quando então foi realizado uma biopsia incisional de controle. Nos espécimes obtidos, de forma elíptica e medindo aproximadamente um centímetro em seus eixos longitudinais, 50% da área de cada um deles representava a mucosa cultivada e 50% abrangia a mucosa natural circunvizinha. Estes espécimes colhidos foram cortados longitudinalmente. Fizemos então um ponto de reparo no extremo de ambas as peças para identificar a mucosa natural. Uma das peças foi enviada para estudo em microscopia óptica e a outra para microscopia eletrônica. No laboratório de anatomia patológica, essas peças, com o ponto de reparo para identificação, foram clivadas em três terços: o terço superior, com o ponto de reparo, significando a mucosa natural; o terço inferior, representando a mucosa cultivada em laboratório e utili-



**Figura 1** — Fotomicrografia da mucosa cultivada in vitro. Microscopia de contraste de fase. 200X.



**Figura 2** — Área jugal ressecada.



**Figura 3** — *Enxerto da mucosa cultivada.*



**Figura 4** — *Aspecto clínico no 90º dia pós-operatório.*

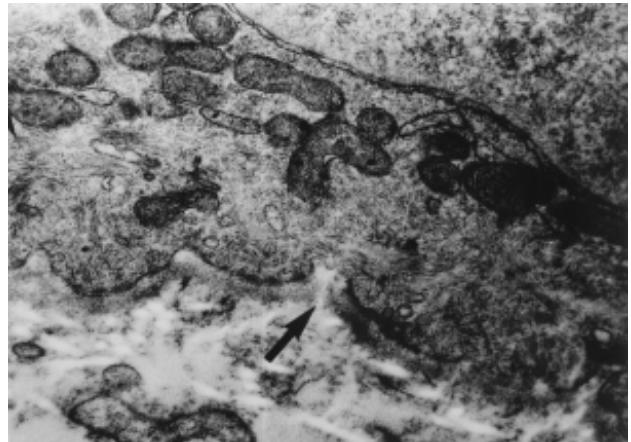
zada para o enxerto e, finalmente, o terço médio, representando a zona de transição, identificada através da discreta mudança de coloração.

## RESULTADOS

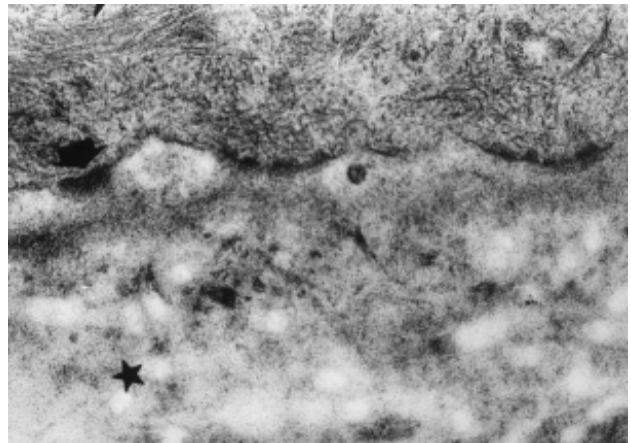
O pós-operatório transcorreu sem complicações relevantes. No sétimo dia pós-operatório, quando removemos a sutura com a gaze contendo petrolato, pudemos observar, em todos os pacientes, uma depressão denotando as áreas ressecadas. Clinicamente podia-se perceber que havia alguns pontos sem a cobertura total do enxerto.

No 14º dia pós-operatório, o aspecto clínico da área enxertada era normal, não obstante a magnitude e profundidade das ressecções que, em todos os casos, atingiram a camada muscular subjacente.

No 30º dia pós-operatório, examinamos todos os pacientes, quando constatamos discreta diferença de coloração das áreas enxertadas, mostrando-se essas mais avermelhadas que a mucosa natural circunvizinha. Essa discreta diferença na coloração não era observada com



**Figura 5** — *Eletronmicrografia do aspecto basal da mucosa enxertada. Lâmina basal presente apresentando descontinuidade focal (seta). X 40.000.*



**Figura 6** — *Eletronmicrografia mostrando hemidesmosomas na superfície basal da célula escamosa (seta maior) e presença de fibrila de ancoragem (seta menor) na porção superior da lâmina própria. Ceratinócito basal com tonofilamentos dispostos paralelamente à membrana basal X 42.000.*

iluminação natural, e sim, com fonte de luz de grande intensidade (10.000 lúmens). Mantivemos o acompanhamento até o 90º dia pós-operatório e o resultado clínico e funcional mantiveram-se estáveis. Realizamos então biopsias incisivas para o controle pós-operatório. A biopsia incluía parte da mucosa enxertada e também parte da mucosa natural circunvizinha. O estudo anatomopatológico com microscopia óptica e eletrônica mostrou que a integração do enxerto da mucosa cultivada com o leito receptor foi bastante satisfatória. Outra constatação relevante foi que as células da mucosa cultivada apresentavam-se morfológicamente sem alteração do padrão de células da zona doadora, com discreta acantose e infiltrado inflamatório. No estudo ultra-estrutural pode ser verificado que a mucosa enxertada apresentava lâmina basal com descontinuidades focais, presença de hemidesmosomas e fibrilas de ancoragem (Figuras 5 e 6).

Vale ressaltar que em todos os cinco pacientes pôde-se perceber alguma área com sinais de evolução para cicatriz por segunda intenção, sendo esse fato mais visível no paciente "C", que recebeu o enxerto de maior extensão. Como essas áreas eram de pequenas dimensões (a maior de aproximadamente cinco milímetros), esse fato não comprometeu o resultado funcional ou estético do procedimento. Para o estudo da área de cicatrização por segunda intenção, realizamos uma biopsia por *punch*, aos três meses de pós-operatório, tendo o espécime sido enviado para o estudo ultra-estrutural. O resultado do mesmo mostrou infiltrado inflamatório importante na lâmina própria.

Levando-se em conta o estudo anatomopatológico com microscopia óptica e através da micrografia eletrônica, pudemos observar que a integração do enxerto da mucosa cultivada com o leito receptor, foi bastante satisfatória na quase totalidade da área ressecada. A neovascularização foi significativa, demonstrando que as células epiteliais da cultura secretam fatores angiogênicos. Foi observada adequada união entre os ceratinócitos cultivados e entre eles e a membrana basal (Figuras 5 e 6).

## DISCUSSÃO

As opções terapêuticas para as LPC são definidas por procedimentos clínicos e cirúrgicos. Os primeiros incluem a utilização de corticosteróides (uso tópico e também sistêmico), retinóides, griseofulvina, ciclosporinas, antibióticos, dapsona, bismuto, gluconato de cálcio, imunoglobulinas, ciclofosfamida, metotrexato, azatioprina, drogas antimaláricas, fenitoína e ácido nicotínico ou nicotinamida, com resultados pouco animadores<sup>17</sup>. A exérese convencional é indicada para lesões de reduzidas dimensões e quando há associação com erosões ou fissuras. Nas lesões mais extensas, a reconstrução do defeito provocado pela ressecção tem sido desafiadora para os cirurgiões<sup>18</sup>. São descritas usualmente a criocirurgia<sup>19</sup> e a cirurgia com *laser* de CO<sub>2</sub><sup>20</sup>. A primeira apresenta o inconveniente da impossibilidade de se controlar a extensão e profundidade a serem atingidas. Isso assume maior relevância quando sabe-se que a maior parte das LPC situa-se na região jugal<sup>21</sup> subjacente à qual encontram-se estruturas anatômicas nobres, como ramos do V e VII pares cranianos, além do ducto parotídeo.

Como bem salienta Silverman e cols.<sup>22</sup>, há, todavia, que se levar em conta o tamanho da lesão com relação à praticabilidade da remoção. Como é consensual, as lesões maiores não são ressecadas devido à mutilação que causariam no paciente ao não possuir, o cirurgião, tecido circunjacente em condições de cobrir o defeito por ele provocado no ato cirúrgico. Essa limitação é grave, pois é conhecida

a relação diretamente proporcional entre a possibilidade de cancerização de uma LPC e o tamanho da mesma<sup>21</sup>, particularmente nas lesões com diâmetros maiores do que dois centímetros.

Ao longo do tempo, têm sido empregados, também, os enxertos livres de pele com o objetivo de se cobrir o leito cruento após ressecção<sup>16,23</sup>. Todavia há o inconveniente da possibilidade de crescimento de fâneros pilosos no local do enxerto, além do inconveniente da agressão estética permanente, pois a área de enxerto de pele jamais conseguirá mimetizar o aspecto clínico da mucosa. Assumimos, então, o desafio, de ressecar LPC de grandes dimensões, na totalidade, pois passamos a dispor de mucosa humana, cultivada *in vitro*, para a reconstrução da integridade anatômica da ferida cirúrgica.

Apesar de terem sido constadas áreas sem cobertura total da mucosa na ferida cirúrgica, no 90º dia pós-operatório, pudemos observar um completo processo de reparação, e as áreas referidas evoluíram com aspecto clínico de cicatrização por segunda intenção. Isso nos fez imaginar que possivelmente as áreas que no sétimo dia pós-operatório sugeriam falha na integração do enxerto deviam possuir, ainda, células viáveis, capazes de completar o processo cicatricial, comportando-se como curativos biológicos. Com referência ao estudo ultra-estrutural da área de cicatrização por segunda intenção, pôde-se observar que nesse ponto havia perda da continuidade da membrana basal (Figura 5), embora clinicamente essa região da mucosa se mostrasse totalmente cicatrizada. Essa alteração da membrana basal trouxe-nos inquietação, e imaginamos poder resolver esse problema através de um segundo enxerto de mucosa cultivada, por volta do sétimo ao 10º dia pós-operatório. Para isso, planejamos agir nos moldes do que atualmente é realizado no tratamento de pacientes vítimas de queimaduras cutâneas extensas, em que se aplicam enxertos sucessivos de pele cultivada. Para tanto, basta manter sob congelação uma porção do tecido cultivado, o que já vem sendo realizado no BCRJ. Para esse segundo enxerto, evitando-se a ocorrência das áreas de cicatrização por segunda intenção, pretendemos utilizar cola biológica para a fixação do enxerto. Por tratar-se de procedimento de pequeno porte, poderá ser o mesmo realizado sob anestesia local e em nível ambulatorial.

Esse trabalho demonstra que é viável a utilização de mucosa jugal humana cultivada no tratamento cirúrgico de lesões bucais pré-cancerosas extensas. Houve integração da quase totalidade do enxerto de mucosa cultivada, exceto em pequenas áreas que evoluíram com cicatrização por segunda intenção, sem, entretanto, comprometer os resultados clínico, funcional e estético.

---

**ABSTRACT**

**Objective :** *The authors propose a new approach to the treatment of extensive pre-malignant lesions of the jugal mucosa, using laboratory grown autogenous squamous mucosa as graft. **Method:** The graft was implanted at the same time the original lesion was excised. Five patients underwent surgery and were followed up until a control biopsy was obtained after 90 days. Both clinical and morphological criteria, including light and electronic microscopy, were used to assess integration of the graft to the receptor bed. **Results:** The anatomopathological study under light and electronic microscopy of the five patients showed integration of the cultivated mucosa to the receptor bed. Cells from the cultivated mucosa make up layers which organize and differentiate according to the pattern of the donor zone. The ultrastructure of the grafted mucosa showed a basal layer with discrete areas of loss of continuity, hemidesmosomes and anchorage fibrillae. **Conclusions:** Our results demonstrated that being a timely and feasible technique for the treatment of pre-malignant lesions, so far deemed not amenable to resection owing to their extension, the technique may be considered a real possibility for the definitive treatment.*

**Key Words:** *Squamous mucosa; Keratinocytes; Mucosa culture; Mucosa graft.*

---

**REFERÊNCIAS**

1. Bouquart JE, Gorlin RJ. Leukoplakia, lichen plannus and other keratosis in 23,616 white americans over the age of 35 years. *Oral Surg Oral Med Oral Path*, 1986, 61(4):373-381.
2. Bouquart JE. Oral leukoplakia and erythroplakia: a review and update. *Pract. Periodontics Aesthet Dent*, 1994, 6(6):9-17.
3. Vanclooster R. Oral cancer. Precancerous conditions. *Rev Belge Med Dent*, 1994, 49(1):23-33.
4. Bricker SL. Oral lichen plannus: a review. *Sem Dermatol*, 1994, 13(2):87-90.
5. Lozada-Nur F. Lichen plannus associated with neoplasia. *J Am Acad Dermatol*, 1994, 31(6):1078-1080.
6. Frame JW. The management of oral premalignant lesions. *Brit J Oral Maxillofacial Surg*, 1992, 30(2):71.
7. Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strain of human epidermal keratinocyte: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*, 1975, 6:331-343.
8. Compton CC, Gill JM, Bradford DA et al. Skin regenerated from cultured epithelial autografts on full-thickness burn wounds from 6 days to 5 years after grafting: a light, electron microscopic and immunohistochemical study. *Lab Invest*, 1989, 60(5):600-612.
9. Woodward B, Premachandra DJ, Milton C. The successful use of cultured autologous epithelial layers in the treatment of two groups of ENT patients. *J Tissue Viab*, 1992, 2(1):23 .
10. Feinberg SE, Krishnan V, Gordillo G et al. Intraoral grafting of a canine full-thickness oral mucosal equivalent produced in vitro. *J Oral Maxillofac Surg*, 1989, 47:712-718.
11. De Luca M, Albanezi E, Megna M et al. Evidence that human oral epithelial reconstituted in vitro and transplanted onto patients with defects in the oral mucosa retains properties of the original donor site. *Transplantation*, 1999, 50:454.
12. Ueda M, Ebata K, Kaneda T. In vitro fabrication of bioartificial mucosa for reconstruction of oral mucosa: basic research and clinical application. *Ann Plast Surg*, 1991, 27(6):540-549.
13. Langdon J, Williams DM, Navsaria H et al. Autologous keratinocyte grafting: a new technique for intra-oral reconstruction. *Brit Dent J*, 1991, 171:87-90.
14. Raghoebar GN, Tomson AM, Scholma J, Blaauw EH, Wijtjes MJH, Vissink A. Use of cultured mucosal grafts to cover defects caused by vestibuloplasty: an in vivo study. *J Oral Maxillofac Surg*, 1995, v.53, p.872-78.
15. Borojevic R, Serricella P. Próteses vivas de pele humana. *Biotech. Ciência & Desenv*, 1998, 7:16-18.
16. Franco T, Serricella Branco P, Franco D et al. Autologous graft of cultivated epidermis. *Rev Soc Bras Cir Plast*, 2000, 15(2):63-78.
17. Boyd AS, Neldner KH. Lichen plannus. *J Am Acad Dermatol*, 1991, 25(4): 593-619.
18. Phillips TJ. Cultured skin grafts: past, present, future. *Arch Dermatol*, 1988, 124:1035.
19. Tal H, Cohen MA, Lemmer J. Clinical and histological changes following cryotherapy in a case of widespread oral leukoplakia. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1982, 11(1):64-68.
20. Horch HH, Gerlach KL, Shaefer HE. CO<sub>2</sub> laser surgery of oral premalignant lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1986, 15(1):19-24.
21. Santana Garay JC, Tarrago JF, Tabrane MS et al. Malignización de las queratosis bucales: características clínicas. *Rev Cubana Oncol*, 1987, 3(2):185-196.
22. Silverman S, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation. *Cancer*, 1984, 53(3):563-568.
23. Teichgraeber J, Larsson D, Castaneda O. Skin grafts in intraoral reconstruction. *Arch Otolaryngol*, 1980, 110:528-532.

Endereço para correspondência:

Lucas N. M. de Castro

Rua Ivan Soares de Oliveira, 390 — Parque Imperial  
36036-350 — Juiz de Fora-MG