

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA  
MESTRADO PROFISSIONAL EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA**

**EMANUELY RONCONI DA FONSECA**

**ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE LEUCOPLASIA ORAL E LEUCOPLASIA  
VERRUCOSA PROLIFERATIVA (LVP) E CARACTERIZAÇÃO DA  
IMUNOEXPRESSÃO DA CITOQUERATINA 19 NA LVP**

**VITÓRIA-ES**

**2020**

EMANUELY RONCONI DA FONSECA

**ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE LEUCOPLASIA ORAL E LEUCOPLASIA  
VERRUCOSA PROLIFERATIVA (LVP) E CARACTERIZAÇÃO DA  
IMUNOEXPRESSION DA CITOQUERATINA 19 NA LVP**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica do Centro de Ciências e Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito para obtenção do título de mestre em Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Danielle Resende Camisasca Barroso

**VITÓRIA-ES**

**2020**

EMANUELY RONCONI DA FONSECA

**ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE LEUCOPLASIA E LEUCOPLASIA  
VERRUCOSA PROLIFERATIVA E CARACTERIZAÇÃO DA IMUNO-EXPRESSÃO  
DA CK-19 EM LEUCOPLASIA VERRUCOSA PROLIFERATIVA**

Projeto de Conclusão de Curso apresentado ao programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção de título de Mestre em Clínica Odontológica.

Aprovada em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

COMISSÃO EXAMINADORA

---

Profª Drª Danielle Resende Camisasca Barroso  
Universidade Federal do Espírito Santo

---

Profª Drª Liliana Aparecida Pimenta de Barros  
Universidade Federal do Espírito Santo

---

Profª Drª Sônia Alves Gouvêa  
Universidade Federal do Espírito Santo

**Dedicatória**

*À minha mãe, meu maior exemplo de vida e amor.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por ser sempre tão maravilhoso, por me colocar no caminho da Odontologia e por me dar forças e sabedoria para vencer todos os obstáculos, mesmo quando achei que era impossível.

A minha mãe, minha melhor amiga, pelo amor incondicional, por sempre acreditar no meu potencial e sonhar comigo os meus sonhos. Muito obrigada por me ensinar o verdadeiro sentido de amar.

Ao meu pai por todo amor, base e carinho dedicados a mim. Meu exemplo de força e coragem!

Ao meu Padrasto, José, pela paciência, amizade e carinho, por não medir esforços para tornar esse sonho possível.

A minha madrasta, Jeiza, pela amizade, palavras de carinho nos momentos difíceis e por fazer das minhas vitórias as dela. Sei que agora tenho mais um anjo a olhar por mim.

Aos meus irmãos, Ana Júlia e Cristiano, pelo amor, carinho, amizade, companheirismo e a certeza de que nunca estarei sozinha. Amo vocês!

A minha avó, Delza, minha segunda mãe, por todo cuidado, amor e orações.

Aos meus tios, agradeço por serem tão presentes na minha vida e ajudarem na minha criação.

A minha orientadora, professora Danielle Resende Camisasca Barroso, pela paciência, carinho, compreensão pelos momentos difíceis no decorrer deste trabalho e por todo conhecimento transmitido.

A professora Letícia Nogueira da Gama de Souza Bautz, por nos ajudar na etapa laboratorial deste trabalho. Muito obrigada pela atenção e disponibilidade.

Ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, por me permitirem a realização de mais este sonho.

## RESUMO

**Objetivos:** Levantar e revisar os casos diagnosticados como leucoplasia oral (LO) no Serviço de Anatomia Patológica Bucal da UFES, no período de 2009 a 2017, descrever as características clínicas, sóciodemográficas histopatológicas, aplicar os critérios para leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP) propostos por Cerero-Lapiedra *et al.* (2010) e Villa *et al.* (2018) e realizar a imunohistoquímica das LVP. **Métodos:** A partir dos registros do Serviço de Anatomia Patológica Bucal do Curso de Odontologia da UFES foram levantados todos os casos diagnosticados como LO de 2009 a 2017. As requisições histopatológicas, fichas e prontuários foram acessados para coleta dos dados sóciodemográficos, hábitos e dados clínicos. As lâminas histopatológicas de cada caso foram revisadas. Os dados foram submetidos a análises descritivas (médias, medianas e proporções) e a associação das variáveis com as categorias diagnósticas obtida pelo teste do qui-quadrado. **Resultados:** Dos 97 pacientes diagnosticados com LO, 18 cumpriram os critérios para LVP-Cerero, destes 83,33% (n=15) do gênero feminino e 16,17% (n=3) do masculino, e 8 cumpriram os critérios para LVP-Villa, destes 75% (n=6) do gênero feminino e 25% (n=2) do masculino. A média de idade encontrada foi de 61,22 e 57,75 anos, respectivamente. Quanto aos hábitos, nas LVP-Cerero 66,67% dos pacientes declaram não ser tabagistas (n=12) e nas LVP-Villa o número de tabagistas e não tabagistas foi igual, 37,5% (n=3). Houve associação das LVP com múltiplos sítios acometidos (p=0,08 e 0,016). A maioria das lesões eram brancas, 81,48% (n=44) na LVP-Cerero e 92,31% (n=24) na LVP-Villa e não possuía superfície lisa (n=38, 70,37% e n=17, 65,38%, respectivamente). A língua foi mais acometida (n=21, 38,89%) na LVP-Cerero e a mucosa jugal (n=12, 42,86%) na LVP-Villa. Houve transformação maligna de dois casos de LVP. Havia associação da camada granulosa com LVP-Villa (p=0,03), associação da orto e paraceratina simultaneamente com a LVP-Villa (p=0,004), associação da degeneração da camada basal com a LVP-Cerero (p=0,039) e associação da distribuição do infiltrado inflamatório com ambas (p=0,004 e 0,003). **Conclusão:** Os critérios diagnósticos aplicados foram úteis para identificar os casos de LVP e podem ser aplicados na prática clínica. O perfil da LVP difere do perfil clássico do paciente que desenvolve câncer de boca, acometendo mais mulheres não fumantes.

**Palavras-chave:** Leucoplasia oral. Leucoplasia verrucosa proliferativa. Carcinoma de células escamosas. Doenças de boca.

## ABSTRACT

**Objectives:** To survey and review the cases diagnosed as oral leukoplakia (OL) at the UFES Department of Oral Pathological Anatomy, from 2009 to 2017, describe the clinical and socio-demographic histopathological characteristics, apply the criteria for proliferative verrucous leukoplakia (PVL) proposed by Cerero- Lapiedra *et al.* (2010) and Villa *et al.* (2018) and perform PVL immunohistochemistry. **Methods:** From the records of the Oral Pathological Anatomy Service of the UFES Dentistry Course, all cases diagnosed as OL from 2009 to 2017 were surveyed. Histopathological requests, records and medical records were accessed to collect socio-demographic data, habits and clinical data. The histopathological slides of each case were reviewed. The data were subjected to descriptive analysis (means, medians and proportions) and the association of variables with the diagnostic categories obtained by the chi-square test. **Results:** Of the 97 patients diagnosed with OL, 18 met the criteria for PVL-Cerero, of these 83.33% (n=15) were female and 16.17% (n=3) were male, and 8 met the criteria for PVL-Villa, of these 75% (n=6) female and 25% (n=2) male. The average age found was 61.22 and 57.75 years, respectively. Regarding habits, in the PVL-Cerero 66.67% of the patients declared they were not smokers (n=12) and in the PVL-Villa the number of smokers and non-smokers was equal, 37.5% (n=3). There was an association of PVL with multiple affected sites ( $p=0.08$  and  $0.016$ ). Most injuries were white, 81.48% (n=44) in PVL-Cerero and 92.31% (n=24) in PVL-Villa and did not have a smooth surface (n=38, 70.37% and n=17, 65.38%, respectively). The tongue was more affected (n=21, 38.89%) in the PVL-Cerero and the jugal mucosa (n=12, 42.86%) in the PVL-Villa. There was a malignant transformation in two cases of PVL. There was an association of the granular layer with PVL-Villa ( $p=0.03$ ), an association of ortho and parakeratin simultaneously with PVL-Villa ( $p=0.004$ ), an association of degeneration of the basal layer with PVL-Cerero ( $p=0.039$ ) and association of the distribution of the inflammatory infiltrate with both ( $p=0.004$  and  $0.003$ ). **Conclusion:** The diagnostic criteria applied were useful to identify cases of PVL and can be applied in clinical practice. The LVP profile differs from the classic profile of the patient who develops oral cancer, affecting more non-smoking women.

**Keywords:** Oral leukoplakia. Proliferative verrucous leukoplakia. Squamous cell carcinoma. Diseases of the mouth.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1</b> - Padronização do anticorpo utilizando uma lâmina de carcinoma colorretal.....  | 29 |
| <b>Figura 2</b> - Imagem representativa dos casos de leucoplasia oral e LVP.....  | 32 |
| <b>Figura 3</b> - Caso de LO e LVP, respectivamente, demonstrando os achados histopatológicos.....  | 35 |
| <b>Figura 4</b> - Aspectos clínicos iniciais da LVP observados após 5 anos de acompanhamento.....   | 38 |
| <b>Figura 5</b> - Aspectos clínicos da LVP.....   | 38 |
| <b>Figura 6</b> - Características histopatológicas da LVP.....  | 41 |
| <b>Figura 7</b> - Aspectos imunohistoquímicos da LVP.....   | 44 |
| <b>Quadro 1</b> - Critérios para classificação de LVP segundo Cerero-Lapiedra <i>et al.</i> (2010). Para ser considerado como portador de LVP, o paciente deve cumprir 3 critérios maiores (sendo o E um deles), ou 2 maiores (sendo o E um deles) e 2 menores..... | 21 |
| <b>Quadro 2</b> - Critérios para classificação de LVP segundo Villa <i>et al.</i> (2018). Para ser considerado portador de LVP, o paciente deve cumprir os 4 critérios.....   | 22 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1</b> – Análise comparativa dos dados sóciodemográficos entre leucoplasia oral e LVP.....  | 33 |
| <b>Tabela 2</b> - Análise comparativa dos dados clínicos entre leucoplasia oral e LVP.....   | 34 |
| <b>Tabela 3</b> - Análise comparativa dos dados histopatológicos entre leucoplasia oral e LVP.....   | 36 |
| <b>Tabela 4</b> - Análise descritiva da imuno-histoquímica das LVP.....  | 43 |
| <b>Tabela 5</b> - Análise estatística comparativa entre leucoplasia oral e LVP – dados sóciodemográficos e clínicos (análise por paciente) ..... | 45 |
| <b>Tabela 6</b> - Análise estatística comparativa entre leucoplasia oral e LVP – dados clínicos (análise por lâmina) .....                       | 46 |
| <b>Tabela 7</b> - Análise estatística comparativa entre leucoplasia oral e LVP – dados de aspecto da lesão (análise por lâmina) .....            | 47 |
| <b>Tabela 8</b> - Análise estatística comparativa entre leucoplasia oral e LVP – dados histopatológicos (análise por lâmina) .....               | 48 |
| <b>Tabela 9</b> - Comparação dos dados obtidos com a 1ª biópsia com a biópsia subsequente.....   | 50 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**AR-HPV** – Papiloma Vírus Humano de alto risco

**BR-HPV** – Papiloma Vírus Humano de baixo risco

**CCE** – Carcinoma de Células Escamosas

**CEO** – Carcinoma Epidermóide Oral

**CECE** – Carcinoma Epidermóide de Células Escamosas

**CECO** – Carcinoma de Células Escamosas Oral

**CK19** – Citoqueratina 19

**DEO** – Displasia Epitelial Oral

**DOPM** – Desordens com Potencial de Malignização

**HPV** – Papiloma Vírus Humano

**LO** – Leucoplasia Oral

**LPO** – Líquen Plano Oral

**LVP** – Leucoplasia Verrucosa Proliferativa

**LVP-CCE** – Carcinoma de Células Escamosas associado à Leucoplasia Verrucosa Proliferativa

**LVP-Cerero** – Leucoplasia Verrucosa Proliferativa de acordo com os critérios de Cerero-Lapiedra *et al.* (2010)

**LVP-Villa** – Leucoplasia Verrucosa Proliferativa de acordo com os critérios de Villa *et al.* (2018)

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**UFES** – Universidade Federal do Espírito Santo

## SUMÁRIO

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO</b> .....   | 14        |
| <b>2</b> | <b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....  | 16        |
| 2.1      | DESORDENS COM POTENCIAL DE MALIGNIZAÇÃO.....  | 16        |
| 2.2      | DISPLASIA EPITELIAL ORAL.....   | 16        |
| 2.3      | LEUCOPLASIA ORAL.....   | 18        |
| 2.4      | LEUCOPLASIA VERRUCOSA PROLIFERATIVA.....  | 20        |
| 2.5      | MARCADOR CK19.....  | 22        |
| <b>3</b> | <b>OBJETIVOS</b> .....  | 26        |
| 3.1      | OBJETIVO GERAL.....   | 26        |
| 3.2      | OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....  | 26        |
| <b>4</b> | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....  | 27        |
| 4.1      | SELEÇÃO DOS CASOS.....  | 27        |
| 4.2      | APLICAÇÃO DOS CRITÉRIOS PARA LVP.....   | 27        |
| 4.3      | ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA.....  | 28        |
| 4.4      | SELEÇÃO DOS BLOCOS DE PARAFINA E PADRONIZAÇÃO DO<br>ANTICORPO PARA IMUNO-HISTOQUÍMICA DE LVP..... | 28        |
| 4.5      | 4.5 REAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA.....   | 29        |
| 4.6      | 4.6 ANÁLISE DOS DADOS CLÍNICOS E SÓCIODEMOGRÁFICO.....  | 30        |
| 4.7      | 4.7 ANÁLISE DA MARCAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA.....  | 30        |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS</b> .....   | <b>32</b> |
| 5.1      | LEUCOPLASIA ORAL.....   | 32        |
| 5.1.1    | DADOS SÓCIODEMOGRÁFICOS.....  | 32        |
| 5.1.2    | DADOS CLÍNICOS.....   | 33        |
| 5.1.3    | DADOS HISTOPATOLÓGICOS.....   | 35        |
| 5.2      | LVP.....  | 37        |
| 5.2.1    | CLASSIFICAÇÕES.....   | 38        |
| 5.2.2    | DADOS SÓCIODEMOGRÁFICOS LVP-CERERO.....   | 39        |
| 5.2.3    | DADOS CLÍNICOS LVP-CERERO.....  | 39        |
| 5.2.4    | DADOS HISTOPATOLÓGICOS LVP-CERERO.....  | 40        |
| 5.2.5    | DADOS SÓCIODEMOGRÁFICOS LVP-VILLA.....  | 41        |
| 5.2.6    | DADOS CLÍNICOS LVP-VILLA.....   | 42        |
| 5.2.7    | DADOS HISTOPATOLÓGICOS LVP-VILLA.....   | 42        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 5.2.8    | 5.2.5 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA.....   | 43        |
| 5.2.8.1  | 5.2.5.1 ANÁLISE DESCRITIVA.....  | 43        |
| 5.2.8.2  | 5.2.5.2 ANÁLISE QUANTITATIVA.....  | 44        |
| 5.3      | ANÁLISE ESTATÍSTICA COMPARATIVA ENTRE LEUCOPLASIA<br>ORAL E LVP.....                                       | 44        |
| 5.4      | ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE PACIENTES QUE<br>APRESENTARAM MAIS DE UMA BIÓPSIA EM MOMENTOS<br>DIFERENTES..... | 49        |
| <b>6</b> | <b>DISCUSSÃO</b> .....   | <b>51</b> |
| <b>7</b> | <b>CONCLUSÃO</b> .....   | <b>58</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS</b> .....   | <b>60</b> |
|          | <b>ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM<br/>PESQUISA</b> .....                             | <b>64</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

As desordens orais com potencial de malignização (DOPM) apresentam diferentes probabilidades de desenvolver uma neoplasia maligna e a sua identificação tem contribuído para o diagnóstico precoce do câncer de boca (GOODSON *et al.*, 2015).

A leucoplasia oral (LO) é considerada uma DOPM, sendo a mais comum delas. Não apresentam alterações clínicas e histopatológica específicas, e seu diagnóstico é feito juntamente com a avaliação clínica e exclusão das demais patologias caracterizadas por placas brancas orais. (NEVILLE *et al.*, 2016; EL-NAGGAR *et al.*, 2017).

A leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP) é um subtipo pouco comum da LO, de alto risco de transformação maligna, descrita pela primeira por Hansen *et al.* (1985). Ela se caracteriza inicialmente como uma hiperkeratose persistente de crescimento lento e simples, que tende a se espalhar e se tornar multifocal e, com o tempo, desenvolve áreas exofíticas em sua superfície. A LVP pode afetar qualquer área da mucosa oral, mas, a localização na gengiva tem sido descrita como preferencial. É uma lesão de difícil diagnóstico e o tratamento de forma eficaz, é dificultado pelo fato de ter múltiplas recorrências e o aparecimento progressivo de novas lesões (BAGAN *et al.*, 2010; BISHEN; SETHI, 2009; HANSEN *et al.*, 1985).

As LVP, inicialmente, são indistinguíveis das LO comuns, se apresentando como uma placa esbranquiçada homogênea uni ou multifocal de superfície lisa. Porém, ela tem um crescimento persistente, se tornando de natureza exofítica e verrucosa e com alto grau de recorrência. Sob o ponto de vista histopatológico, embora comece como uma hiperkeratose simples pode evoluir para hiperplasia verrucosa, diferentes graus de displasia, e, eventualmente, carcinoma de células escamosas convencional ou carcinoma verrucoso (BAGAN *et al.*, 2003; BISHEN; SETHI, 2009).

A LVP é um tipo de leucoplasia diferente das demais e de difícil diagnóstico, sendo necessários estudos para melhor compreender seu comportamento e evolução, bem como o perfil do paciente acometido. Há grande dificuldade e dúvidas em relação à conduta de tratamento quando o profissional de saúde se depara com um caso de LVP. A adoção de critérios de diagnóstico, bem como exames adicionais, como

imuno-histoquímica, pode ajudar na identificação dessa DOPM (CERERO-LAPIEDRA *et al.*, 2010; HANSEN *et al.*, 1985; VILLA *et al.*, 2018).

A citoqueratina 19 (CK19) é uma de 20 tipos existentes de queratinas apresentando aplicação como marcador tumoral em vários tipos de câncer, como tireóide, torácico, pulmão, pancreático, cervical e colorretal (MEHRPOUYA *et al.*, 2019), além de ser descrito que ela está presente em líquen plano oral (LPO) (BOMBECCARI *et al.*, 2018), carcinoma de células escamosas (CCE) (BOMBECCARI *et al.*, 2018; MEHRPOUYA *et al.*, 2019; NOORLAG *et al.*, 2017; SANTORO *et al.*, 2015) e cistos e tumores odontogênicos (MEHRPOUYA *et al.*, 2019). Em vários tipos de câncer, a CK19 pode estar superexpressa e pode desempenhar um papel crucial na transformação tumorigênica (SAHA *et al.*, 2018).

Com esse estudo, pretende-se comparar critérios diagnósticos para LVP em uma amostra de LO, para detectar se há um critério com maior acurácia do que outro, ou que apresente associação com o desfecho do paciente. A análise da marcação imuno-histoquímica para CK19 foi feita para caracterizar essa citoqueratina nesse tipo de lesão e, por meio da comparação entre as LVP com seus desfechos e estágio de acometimento perceber se as lesões que expressam mais CK19 tenderiam a ser mais agressivas.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi aplicar os critérios propostos por Cerero-Lapiedra *et al.* (2010) e Villa *et al.* (2018) para realizar o diagnóstico da LVP em pacientes com LO e descrever as características clínicas, sóciodemográficas, histopatológicas da LO em comparação com LVP, bem como descrever a expressão imuno-histoquímica da CK19 em LVP.

## 2 REVISÃO LITERATURA

### 2.1 DESORDENS COM POTENCIAL DE MALIGNIZAÇÃO

As DOPM têm sido muito discutidas na literatura pois apresentam diferentes probabilidades de desenvolver uma neoplasia maligna, podendo ser um CCE, ou algum subtipo deste que é o câncer mais comum da cavidade bucal. Dessa forma, sua importância clínica tem sido destacada por contribuir para o diagnóstico precoce do câncer de boca (GOODSON *et al.*, 2015).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2005, atualizou a nomenclatura das lesões anteriormente classificadas como lesões e condições orais pré-malignas para desordens com potencial de malignização. A nomenclatura antiga sugeria que todas as lesões classificadas como pré-cancerosas, obrigatoriamente, iriam sofrer transformação maligna. Nesta reunião, estudiosos procuraram um nome que refletisse melhor o comportamento das lesões, já que em muitos casos, não havia a transformação maligna, mas ainda assim há a necessidade de acompanhamento (WARNAKULASURIYA; JOHNSON; VAN DER WAAL, 2007).

A OMS classifica como DOPM a leucoplasia, eritroplasia, eritroleucoplasia, líquen plano oral, candidíase crônica, queilite actínica, lesões palatinas associadas com fumo invertido, fibrose submucosa oral, disceratose congênita, ceratose do tabaco sem fumaça, glossite sífilítica e lúpus eritematoso discóide. Estas desordens apresentam epitélio de revestimento morfológicamente alterado, com risco de transformação maligna maior quando comparado ao de um tecido normal. Sendo que a eritroplasia e a leucoplasia verrucosa proliferativa apresentam o maior índice de transformação maligna, enquanto que as leucoplasias homogêneas e o líquen plano são lesões mais frequentes, porém mostram baixa taxa de malignização (VAN DER WALL, 2009; NEVILLE *et al.*, 2016; EL-NAGGAR *et al.*, 2017).

### 2.2 DISPLASIA EPITELIAL ORAL

A displasia epitelial oral (DEO) é caracterizada como um conjunto de alterações arquiteturais e citológicas causadas pela somatória de alterações genéticas associadas a um fator de risco para a progressão do CCE. As alterações epiteliais incluem proliferação, maturação e diferenciação anormais das células, podendo o epitélio ser atrófico, acantótico e ceratinizado ou não ceratinizado. A DEO é

classificada em três graus de severidade, sendo a leve definida por atipias citológicas limitadas ao terço basal, a moderada por atipias compreendendo até o terço médio, e a grave por atipias compreendendo até o terço superior do epitélio (EL-NAGGAR *et al.*, 2017).

Atualmente a DEO é o fator mais importante para indicar probabilidade de transformação maligna (SHUE-SANG *et al.*, 2007). Lesões displásicas são classificadas em lesões com displasia leve, moderada e severa/grave, de acordo com a extensão epitelial, ou seja, quantidade de camadas epiteliais atingidas, que se observa na análise histopatológica (VAN DER WAAL, 2009).

A DEO está pouco presente nas leucoplasias, mas é um achado comum nas eritroplasias e eritroleucoplasias. Embora a presença de displasia esteja relacionada com o desenvolvimento do CCE, a maioria das displasias não evolui para um carcinoma. Geralmente, quanto mais avançado o grau de displasia, maior a probabilidade de desenvolver CCE (EL-NAGGAR *et al.*, 2017).

Alguns casos de DEO podem resultar em CCE, por isso, é importante o acompanhamento destes casos afim de diagnosticar precocemente CCE de cavidade oral. O estágio clínico do CCE oral e o diagnóstico influenciam a magnitude do tratamento necessário e o prognóstico. Diante disso, Ho *et al.* (2013), realizaram um estudo em que levantaram 91 pacientes com DEO, e observaram que 23 (25%) apresentaram transformação maligna. Dos casos em que houve transformação, foi avaliado TNM clínico e patológico, cirurgia, radioterapia, recorrência, segundo tumor primário e prognóstico. Vinte e um foram tratados inicialmente por ampla excisão local, 2 necessitaram de ressecção de tumor e reconstrução, e 2 necessitaram de radioterapia adjuvante. Esses pacientes foram acompanhados em média por 48 meses, onde 3 tiveram recidiva local, 1 teve recorrência regional, 1 teve câncer de pulmão metacrônico e 5 tiveram o segundo CCE oral primário. Houve mais diagnósticos de displasia epitelial oral em 5 casos durante o acompanhamento. Dessa forma, foi possível concluir que a monitorização especializada da DEO por uma equipe multidisciplinar permite que o CCE seja detectado precocemente e possibilite um tratamento amplamente curativo com intervenção cirúrgica simples e geralmente menor. A alta incidência de segundo CCE oral primário em pacientes de alto risco com DEO apoia ainda mais a vigilância direcionada intensiva nesse grupo (HO *et al.*, 2013).

Outro estudo mais recente também sugere que o manejo contemporâneo das DOPM se baseia na identificação clínica de lesões suspeitas e biópsia incisional para permitir a avaliação histopatológica e a classificação da displasia, juntamente com a excisão de lesões de alto risco (leucoplasia no assoalho da boca, língua ventrolateral e mucosa bucal e eritroleucoplasia) e a vigilância em longo prazo. No entanto, é impossível prever resultados clínicos ou risco de transformação maligna. O objetivo deste estudo foi avaliar a relevância das DOPM de boca previamente identificadas para o desenvolvimento do CCE e estadiamento da doença. Foram avaliados 1248 casos de CCE entre janeiro de 1997 e dezembro de 2008, onde 58 lesões precursoras identificáveis tornaram-se malignas, mas apenas 25 tiveram displasia na biópsia inicial; 19 de 33 lesões não displásicas apresentaram apenas infiltrado liquenóide. O CCE surgiu com maior frequência em ventre de língua e no assoalho de boca, com um tempo médio de transformação de 29,2 meses. O tempo de transformação foi significativamente menor nos homens e aqueles com mais de 70 anos de idade. Este estudo mostra que os resultados da biópsia incisional e a de gradação da displasia têm uso limitado como ferramentas preditivas e apoia a visão de que o câncer pode surgir na ausência de displasia epitelial reconhecível. Estes achados confirmaram a importância da vigilância clínica e da vigilância ativa em todos os pacientes com lesões orais clinicamente instáveis, independentemente dos achados histopatológicos (GOODSON *et al.*, 2015).

### 2.3 LEUCOPLASIA ORAL

A LO é definida pela OMS como “uma mancha ou placa branca, de risco questionável, que não pode ser caracterizada clínica ou patologicamente como qualquer outra DOPM, sendo necessária a realização de biópsia”. A LO não apresenta alteração histopatológica específica, e seu diagnóstico é feito juntamente com a avaliação clínica e exclusão das demais patologias caracterizadas por placas brancas orais. Apesar da mesma não apresentar diagnóstico histopatológico específico, ela é considerada como uma DOPM, pois a frequência de transformação maligna é maior do que comparado a uma mucosa normal. O uso do termo DOPM não sugere que características histopatológicas de displasia epitelial sejam encontradas em todas as lesões, já que o epitélio displásico ou o carcinoma invasivo podem ser encontrados em somente 5% a 25% das biópsias de leucoplasia em boca (NEVILLE *et al.*, 2016; EL-NAGGAR *et al.*, 2017).

A LO é a DOPM mais comum, representando 85% dos casos e em um terço dos carcinomas orais, a leucoplasia oral apresenta estreita proximidade. Sua prevalência varia entre 1,5 e 4,3%, atingindo mais o gênero masculino, exceto em populações em que as mulheres fazem uso de algum tipo de tabaco e derivados com mais frequência (NEVILLE *et al.*, 2016). Sua causa ainda é desconhecida, embora exista algumas hipóteses, como tabaco, álcool, radiação ultravioleta, microrganismos e trauma (NEVILLE *et al.*, 2016).

A LO geralmente afeta indivíduos acima de 40 anos de idade e sua prevalência aumenta à medida que a idade avança, especialmente em homens. A idade média de acometimento é 60 anos de idade. Cerca de 70% das leucoplasias são encontradas no vermelhão do lábio, mucosa jugal e gengiva. Porém lesões em língua, vermelhão do lábio e assoalho representam 90% das leucoplasias que apresentam displasia ou carcinoma (NEVILLE *et al.*, 2016).

Inicialmente, a LO se apresenta como uma placa branca ou acinzentada, plana ou ligeiramente elevada, podendo ser translúcida, fissurada ou enrugada, com bordas bem delimitadas podendo se misturar com a mucosa normal, sendo denominada leucoplasia leve ou delgada. Estas, normalmente não apresentam displasia e podem desaparecer ou continuar inalteradas. Caso progrida, é chamada de leucoplasia homogênea ou espessa, que se caracteriza por placas brancas e espessas bem delimitadas, porém com fissuras profundas, que pode regredir ou desaparecer (cerca de um terço delas). Algumas dessas lesões podem progredir com aumento de irregularidades na superfície, passando a ser denominada de leucoplasia granular ou nodular. Outras que podem apresentar projeções afiadas, rombas ou verruciformes, são denominadas leucoplasia verrucosa ou verruciforme. As leucoplasias podem ser tornar displásicas ou malignas sem que qualquer alteração clínica aconteça. Algumas lesões podem apresentar áreas vermelhas, associadas a áreas brancas, denominadas então de eritroleucoplasia ou leucoplasia mosqueada, e estas normalmente apresentam displasia (NEVILLE *et al.*, 2016). Apesar de ser menos comum que a leucoplasia, a eritroplasia apresenta maior potencial para transformação maligna (14% a 50%), pois em cerca de 90% dos casos é uma displasia moderada ou severa (VAN DER WAAL, 2009).

#### 2.4 LEUCOPLASIA VERRUCOSA PROLIFERATIVA

A LVP é uma forma progressiva e rara de LO com alta morbidade. A primeira descrição foi feita por Hansen *et al.* (1985) como uma forma distinta de LO que se desenvolve inicialmente como uma placa branca que eventualmente se torna lesões multifocais de crescimento lento resistentes a todos os procedimentos terapêuticos, incluindo cirurgia, com alta taxa de recorrência. A LVP apresenta altas taxas de malignização, variando de 40 a 100% dos casos. Com a introdução do termo LVP, o termo anteriormente usado “papilomatose florida oral” desapareceu da literatura (HANSEN *et al.*, 1985; SILVERMAN; GORSKY, 1997; GANDOLFO *et al.*, 2009)). Na verdade, a OMS (2005) descreveu a LVP como “uma forma clínica de alto risco de lesões precursoras orais, rara, mas distinta”. Vários estudos examinaram as características da LVP e sua propensão para evoluir para o carcinoma oral. Trinta anos após sua descoberta, ela ainda é uma doença desafiadora, com etiologia não confirmada e tratamento deficiente. Embora existam artigos publicados sobre os critérios diagnósticos da LVP, eles podem ser imprecisos na detecção de apresentações precoces da doença, seja por visão clínica ou histopatológica (CAPELLA *et al.*, 2017).

Essa lesão desenvolve-se inicialmente como uma hiperqueratose clínica focal e plana, e progressivamente torna-se multifocal com características exofíticas e verrucosas. Com a progressão da lesão, ocorrem alterações displásicas, podendo levar a transformação em CCE após um período prolongado (BARNES *et al.*, 2005; NEVILLE *et al.*, 2009).

Akrish *et al.* (2015), realizaram um estudo com o objetivo de documentar e comparar as características histopatológicas, imunohistoquímicas, clínicas e taxas de sobrevivência do carcinoma em pacientes com LVP (LVP-CCE) e com CCE convencional, para determinar se o LVP-CCE deve ser categorizado como uma entidade clínica separada. Utilizando como biomarcadores o p16, p53 e o ki67, eles observaram que LVP-CCE apresentou menor estágio clínico, menor tamanho do tumor, nenhuma metástase dos linfonodos ou metástase à distância e melhor sobrevivência em curto prazo, mas não a longo prazo. Microscopicamente, a espessura do tumor LVP-CCE foi significativamente menor. A superexpressão de p53 foi mais comum em LVP-CCE, mas não de ki67 ou p16. E concluíram que, a LVP-CCE em comparação com CCE convencional apresentou fatores prognósticos (menor estágio clínico, ausência de metástase regional e distante e tumores

microscopicamente mais superficiais) significativamente melhores, taxas de sobrevivência a curto prazo e maior duração da doença. Sugerindo que o LVP-CCE pode representar uma entidade distinta de câncer de boca (AKRISH *et al.*, 2015).

Desde que foi descrita pela primeira vez por Hansen *et al.* (1985), vários autores tem proposto critérios para diagnosticar a LVP precocemente. O mais conhecido deles, é o modelo proposto por Cerero-Lapiedra *et al.* (2010), onde fizeram uma revisão de literatura dos trabalhos publicados entre os anos de 1985 até 2009. Eles incluíram neste estudo, artigos de série de casos com no mínimo sete casos e revisões de literatura com propósito de avaliar achados histopatológicos e diagnóstico de transformação maligna e a partir destes dados propuseram um critério de diagnóstico clínico-histopatológico para LVP. Esses critérios foram divididos entre maiores e menores e obrigatoriamente deveriam preencher três critérios maiores sendo o E um deles, ou dois critérios menores somados a dois critérios maiores, sendo um deles o critério E (CERERO-LAPIEDRA *et al.*, 2010) (Quadro 1).

**Quadro 1:** Critérios para classificação de LVP segundo Cerero-Lapiedra *et al.* (2010). Para ser considerado como portador de LVP, o paciente deve cumprir 3 critérios maiores (sendo o E um deles), ou 2 maiores (sendo o E um deles) e 2 menores.

|          | <b>Critérios Maiores ou principais</b>   |          | <b>Critérios Menores</b>   |
|----------|--|----------|--|
| <b>A</b> | Uma lesão leucoplásica em mais de dois sítios orais diferentes, sendo mais frequente na gengiva, rebordo alveolar e palato.  | <b>A</b> | Uma lesão oral leucoplásica que ocupe pelo menos 3 cm quando inclui toda área afetada. |
| <b>B</b> | Existência de uma área verrucosa.  | <b>B</b> | Paciente do gênero feminino  |
| <b>C</b> | Que as lesões tenham aumentado ou espalhado durante o desenvolvimento da doença.   | <b>C</b> | Paciente (masculino ou feminino) e não fumante   |
| <b>D</b> | Que tenha ocorrido recorrência em uma área já tratada anteriormente.   | <b>D</b> | Doença avaliada por mais de 5 anos.  |
| <b>E</b> | Histopatologicamente, pode apresentar desde simples hiperqueratose epitelial até leucoplasia verrucosa, carcinoma verrucoso ou carcinoma de células escamosas orais, seja <i>in situ</i> ou infiltrante. |          |  |

Outro critério foi proposto atualmente por Villa *et al.* (2018). Foi realizada uma revisão retrospectiva de todos os prontuários médicos para pacientes com diagnóstico clínico de LVP realizada em três centros de medicina oral (dois nos EUA e uma no Brasil) entre agosto de 1996 e outubro de 2016. A partir daí, foi proposto uma classificação com quatro critérios, em que para que um paciente fosse diagnosticado com LVP, ele deveria se enquadrar em todos os quatro obrigatoriamente. Além disso, recomenda-se que lesões sejam fotografadas a cada consulta e que seja feito acompanhamento desses pacientes a cada 3-6 meses e observada a necessidade de novas biópsias (VILLA *et al.*, 2018) (Quadro 2).

**Quadro 2:** Critérios para classificação de LVP segundo Villa *et al.* (2018). Para ser considerado portador de LVP, o paciente deve cumprir os 4 critérios.

|    |  |
|----|--|
| 1. | Lesões brancas / ceratóticas que podem ser lisas, fissuradas, verrucosas ou eritematosas com ou sem úlcera.  |
| 2. | Lesões não contíguas multifocais OU uma única lesão grande > 4,0 cm envolvendo um local OU uma única lesão grande > 3 cm envolvendo locais contíguos   |
| 3. | Lesões que progridem/expandem em tamanho e/ou desenvolvem multifocalidade ao longo do tempo.   |
| 4. | Histopatologia que, se não demonstrar abertamente displasia ou carcinoma, mostra hiperqueratose, paraqueratose, atrofia ou acantose com atipia citológica mínima ou nenhuma, com ou sem uma banda linfocítica, OU hiperplasia verrucosa; estas características não devem apoiar um diagnóstico de queratoses friccionais ou reativas |

#### 2.4 MARCADOR CK19

As queratinas são proteínas estruturais do filamento intermediário citoplasmático que são essenciais para a epiderme, onde são expressas de uma maneira específica em relação ao tipo celular e à diferenciação durante o desenvolvimento e diferenciação epitelial. A expressão de queratinas específicas e as alterações no perfil de expressão refletem temporal e espacialmente o estado de diferenciação das células epidérmicas tanto no desenvolvimento como no tecido epidérmico maduro. De acordo com a mais recente nomenclatura de consenso, os

mais de 35 genes de queratina estão agrupados em dois tipos, de acordo com seu peso molecular e estruturas químicas, o tipo I (baixo peso molecular, ácido; queratinas 9–23) e tipo II (alto peso molecular, neutro-básico; queratinas 1-8), com base na estrutura genômica e homologia de sequências (TROY; ARABZADEH; TURKSEN, 2011; STROESCU *et al.*, 2006).

As queratinas epiteliais simples aparecem precocemente durante o desenvolvimento embrionário e são expressas em tecidos epiteliais não estratificados, ductais e pseudoestratificados. A CK19, a queratina de menor peso molecular, também é expressa na camada basal dos epitélios escamosos das superfícies mucosas (SANTORO *et al.*, 2015).

A CK19 é uma proteína responsável pela rigidez estrutural e foi identificada como um marcador útil de atipia celular, associada a lesões pré-malignas no epitélio oral (LINDBERG; RHEINWALD, 1989). Além disso, a expressão da CK19 tem sido considerada uma pista importante nos eventos iniciais durante a carcinogênese oral (NIE; ZHONG; ZENG, 2002). De acordo com um estudo sobre câncer de mama e células-tronco cancerígenas, realizado por Saha *et al.* (2018), em vários tipos de câncer, a CK19 é superexpressa e pode desempenhar um papel crucial na transformação tumorigênica (SAHA *et al.*, 2018).

Alguns estudos demonstram marcação positiva de CK19 na camada basal de algumas lesões orais displásicas e malignas (LINDBERG, RHEINWALD, 1989; SCHULZ *et al.*, 1992; SAFADI *et al.*, 2010).

Em um artigo, publicado por Bombeccari *et al.* (2019) foram revisados os dados existentes sobre o papel da CK19 em vários tipos de lesões (CCE, líquen plano oral, cistos e tumores odontogênicos, entre outros), bem como os métodos de detecção da CK19 como um candidato a marcador tumoral. Os autores concluíram que a CK19 é uma das citoqueratinas substanciais que se expressam na maioria dos diferentes tecidos epiteliais e mesotélio; a CK19 tem sido utilizada clinicamente como marcador tumoral para demonstrar a existência de células metastáticas no sangue e na medula óssea e sua positividade é considerada como um agente preditivo absoluto em casos de neoplasia; conforme descrito nesta revisão, a superexpressão da CK19 é relatada em cerca de 30 doenças relacionadas a neoplasias, o que demonstra que pode ser um marcador tumoral eficaz para o prognóstico e avaliação de neoplasias humanas

diversas nas fases primárias. Além disso, a detecção de CK19 é conhecida como técnica barata, rápida e quantitativa (BOMBECCARI; GIANNI; SPADARI, 2018).

Um estudo foi realizado por Kellokoski *et al.* (1991), onde avaliaram por imunohistoquímica a distribuição de citoqueratinas 19, 14, 16 e 17 e 8 e 18 em 96 biópsias de mucosa oral realizadas em mulheres com infecções genitais por HPV. Eles observaram uma expressão da CK19 mais eficiente e intensa na camada celular basal de amostras positivas para DNA do HPV, sugerindo pela primeira vez que a infecção viral perturba a diferenciação de queratinócitos nas células basais do epitélio oral, acelerando a produção da proteína citoesquelética de baixo peso molecular (KELLOKOSKI *et al.*, 1991).

Outro estudo relacionando o HPV e a expressão de CK19 foi realizado por Santoro *et al.* (2015), onde foi observado que estudos anteriores mostraram que a infecção epitelial pelo vírus do papiloma humano de alto risco (AR-HPV) induz a imortalização celular via proteínas virais E6 e E7 e isso, por sua vez, prejudica a expressão de citoqueratina nas linhagens de células cancerígenas derivadas do colo uterino. Dessa forma, eles se propuseram a demonstrar a possível relação entre o câncer de boca-orofaringe de AR-HPV<sup>+</sup> e os altos níveis de expressão de CK19. Foram analisados 38 casos de carcinomas epidermóides orais (CEO)/carcinomas epidermóides de células escamosas (CECE) por imunohistoquímica usando anticorpo específico detectando CK19, por hibridização *in situ* e reação em cadeia da polimerase (PCR), métodos utilizados para definir o status infeccioso do HPV. Também foram avaliados a variação da expressão de CK19 nas linhagens celulares UPCI-SCC-131 (HPV<sup>-</sup>) e UPCI-SCC-154 (HPV<sup>+</sup>) por imunocitoquímica e citometria de fluxo. A pontuação CK19 nos CEO/CECE foi identificada multiplicando a porcentagem de células que expressam câncer em intensidade de coloração. O escore de expressão de CK19 em CEO/CECE foi muito diferente entre os casos HPV<sup>+</sup> (média: 288,0 ± 24,3) e nos casos de câncer relacionado ao HPV<sup>-</sup> (média: 66,2 ± 96,9). Áreas heterogêneas de imunorreatividade variando em valor percentual, intensidade e/ou localização foram observadas no epitélio normal, tanto perilesional quanto distante do tumor, com importantes diferenças entre carcinomas AR-HPV<sup>+</sup> e BR-HPV<sup>-</sup> (HPV de baixo risco). Por imunocitoquímica e citometria de fluxo, as duas linhagens celulares analisadas foram positivas para CK19, mas apresentaram um nível de expressão diferente, em particular, pode-se notar que a linhagem

celular UPCI-SCC-154 (HPV +) tinha uma expressão maior que UPCI-SCC -131 (HPV -). Neste estudo, foi demonstrado, pela primeira vez, forte associação entre a regulação positiva da CK19 e os CEO/CECE AR-HPV +. Além disso, em CEO/CECE, o teste para detecção da CK19 pode ser útil na identificação de infecção por AR-HPV, sendo este último relacionado ao potencial do HPV E7 para interromper o padrão normal de expressão de citoqueratina (SANTORO *et al.*, 2015).

Em 2017, um estudo realizado por Bombeccari *et al.*, comparou a expressão imuno-histoquímica da CK19 em lesões de líquen plano oral (LPO) e lesões subsequentes de carcinoma de células escamosas orais (CCEO) que se desenvolveram ao longo do tempo, para avaliar a alteração do padrão de expressão entre LPO e CCEO com diferentes gradações histopatológicas. Foram incluídos 36 pacientes, 18 amostras de LPO e 18 amostras de lesão de CCEO relacionada ao LPO. O anticorpo monoclonal para CK19 foi utilizado na diluição de 1: 100. O padrão de coloração da CK19 foi classificado em uma escala de 4 pontos: (1) sem coloração, (2) apenas poucas células com coloração, (3) menos de 50% das células com coloração e (4) 50% ou mais de as células coradas. As lâminas foram examinadas ao microscópio óptico usando ampliações de lentes objetivas de 4x, 10x e 20x. A taxa de CK19 positiva em tecidos de LPO foi de 33% (6 em 18) e 56% (10 em 18) em tecidos de CCEO. O escore positivo de CK19 nos tecidos CCEO foi significativamente maior do que nos tecidos LPO correspondentes. O CCEO bem diferenciado apresentou escores CK19 significativamente mais baixos do que os moderadamente diferenciados. A quantidade e distribuição da coloração com CK19 em CCEO mostrou diferença relevante em comparação com lesões de LPO. O aumento da expressão da proteína CK19 nos tecidos de CCEO correlaciona-se significativamente com o grau de diferenciação histopatológica (BOMBECCARI; GIANNI; SPADARI, 2018).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Levantar e revisar os casos diagnosticados como LO no Serviço de Anatomia Patológica Bucal da UFES, no período de 2009 a 2017 e aplicar os critérios para diagnóstico da leucoplasia verrucosa proliferativa.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Classificar dentre as LO levantadas, os casos que se encaixam nos critérios para LVP, de acordo com os critérios Cerero-Lapiedra *et al.* (2010) e Villa *et al.* (2018).
2. Coletar os dados sóciodemográficos e clínicos nas fichas e prontuários dos pacientes.
3. Analisar os aspectos histopatológicos das duas lesões estudadas (LO e LVP).
4. Descrever a marcação imunohistoquímica para a CK19 nas LVP.
5. Comparar os dados sóciodemográficos e clínico-patológicos entre as duas lesões estudadas.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo deriva de um projeto anterior intitulado “Critérios para classificação e análise clínico-patológica comparativa entre líquen plano oral, lesões de aspecto liquenóide e leucoplasia verrucosa proliferativa em cavidade oral”, que resultou na dissertação da aluna Fernanda Cardoso Doyle Maia Miguel, e no Trabalho de Conclusão do Curso de Odontologia, da aluna Emilly Possatti Collodetti. Inicialmente foi realizada a seleção dos casos diagnosticados como LO nos registros do Serviço de Anatomia Patológica Bucal do Curso de Odontologia da UFES no período de 2009 a 2017. Trata-se de um estudo retrospectivo e longitudinal, em que foi feita a seleção dos casos; consulta dos dados sóciodemográficos e clínico-patológicos nos prontuários e fichas dos pacientes; classificação dos casos levantados em LO ou LVP, de acordo com critérios diagnósticos previamente estabelecidos (Quadros 1 e 2); seleção dos blocos e lâminas no arquivo; padronização do anticorpo, seguida da marcação e análise imunohistoquímica; comparação das lesões estudadas e análise dos dados da pesquisa.

### 4.1 SELEÇÃO DOS CASOS

Foram levantados os casos diagnosticados como LO com localização em boca, a partir dos registros do Serviço de Anatomia Patológica Bucal do Curso de Odontologia da UFES, no período de 2009 a 2017. As requisições dos exames e laudos histopatológicos, bem como as fichas e prontuários dos pacientes, foram recuperadas para coleta dos dados sócio-demográficos (sexo, raça, idade), hábitos (uso de álcool e cigarro), dados clínicos (doenças sistêmicas, locais acometidos, hipóteses diagnósticas clínicas, tipo de biópsia, sintomas, lesões orais concomitantes), tempo de evolução (tempo entre o paciente perceber a lesão até o momento da consulta inicial), desfecho do paciente (recidiva, novas lesões, transformação maligna) e tempo de acompanhamento (data do diagnóstico histopatológico até a data da última consulta). Foram excluídos os pacientes com idade inferior a 18 anos. Nos prontuários e fichas que não havia a informação sobre o tempo de evolução das lesões, a mesma era calculada baseada na data da primeira consulta até o diagnóstico da lesão pelo exame histopatológico.

### 4.2 APLICAÇÃO DOS CRITÉRIOS PARA LVP

Foram levantados todos os casos diagnosticados como LO, sendo considerados como LVP aquelas que preencherem os critérios propostos por Cerero-Lapiedra et al., 2010 (Quadro 1) e Villa et al., 2018 (Quadro 2). Para a revisão clínica foram utilizados os dados disponíveis na ficha de requisição do exame histopatológico, nos prontuários dos pacientes e nas fotos clínicas já registradas no banco de dados do Núcleo de Diagnóstico Bucal do Curso de Odontologia da UFES.

Para serem classificados como LVP de acordo com os critérios de Villa et al., 2018, os pacientes deveriam possuir documentação fotográfica, histopatológica e possuir pelo menos uma consulta de acompanhamento. Além disso, se o diagnóstico histopatológico fosse de LPO, o caso era excluído.

#### 4.3 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Foram analisadas as lâminas diagnosticadas como LO do arquivo do Serviço de Anatomia Patológica Bucal, confeccionados a partir da biópsia das lesões, com objetivo de comparar os dados das lesões de LO e LVP, a fim de buscar características para o diagnóstico diferencial.

As características histopatológicas avaliadas foram: tipo de ceratinização (ausente, ortoceratina ou paraceratina), hiperplasia do epitélio (acantose e duplicação do epitélio), aquisição da camada granulosa (presente ou ausente), tipo de crista epitelial (hiperplásica, atrófica, em gota, dente de serra), presença de displasia epitelial (presente ou ausente) e grau de displasia epitelial (leve, moderada ou severa), degeneração da camada basal (presente ou ausente), espessamento da membrana basal (presente ou ausente), apoptose (presente ou ausente), coilocitose (presente ou ausente), intensidade do infiltrado inflamatório (leve, intermediário, forte) e distribuição do infiltrado inflamatório (focal ou difusa).

Para a marcação imunohistoquímica, nos casos em que houve mais de uma área de biópsia ou mais de uma biópsia em momentos diferentes, foi selecionado o bloco mais representativo da lesão, ou o bloco da biópsia inicial, bem como o do procedimento mais recente.

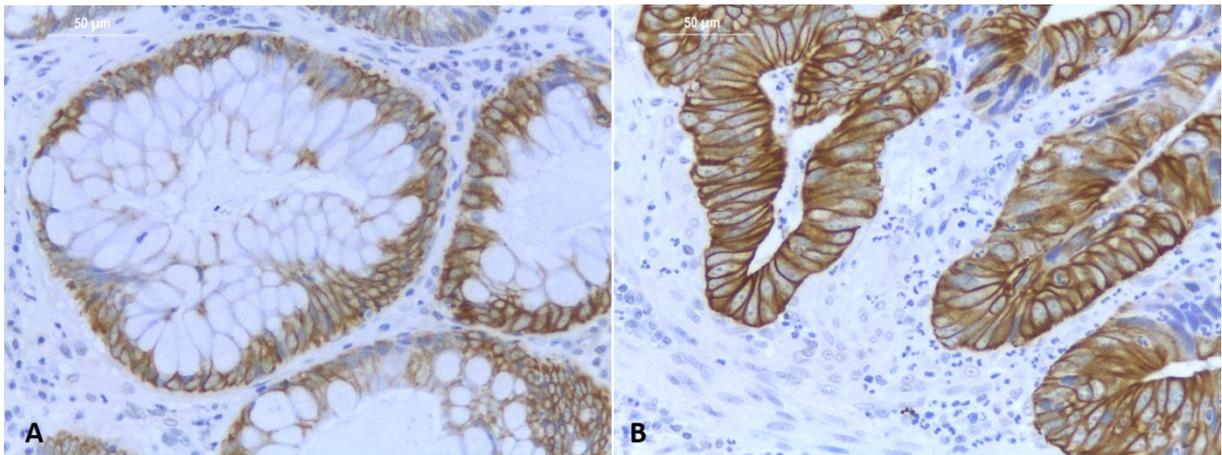
#### 4.4 SELEÇÃO DOS BLOCOS DE PARAFINA E PADRONIZAÇÃO DO ANTICORPO PARA IMUNO-HISTOQUÍMICA DE LVP

Os blocos de parafina referentes aos casos de LVP foram separados e foram confeccionadas quatro cortes sucessivos em lâminas silanizadas para a realização da imunohistoquímica com o anticorpo CK19 (anticorpo monoclonal de camundongo, clone A53-B/A2, Arigo Biolaboratories).

Foram realizados testes para padronização do anticorpo, com base na literatura e bula do anticorpo, variando a diluição do anticorpo até que se obtivesse uma marcação satisfatória, específica e com o mínimo de fundo. Como controle positivo para a CK19 foram utilizados tecidos de ameloblastoma do tipo folicular e carcinoma colorretal (Figura 1).

A CK19 apresentou uma marcação acastanhada citoplasmática, bem como membranar, confirmando a padronização.

**Figura 1** - Padronização do anticorpo utilizando uma lâmina de carcinoma colorretal



**Figura 1- A e B.** Expressão imunohistoquímica da CK19 em carcinoma colorretal. O controle positivo é representado pela coloração acastanhada para CK19, citoplasmática e membranar (Objetiva 40x).

#### 4.5 REAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA

Foram classificados 18 casos como LVP, utilizando os critérios descritos na seção 4.2., com 54 biópsias e destas foram selecionados 26 espécimes cirúrgicos para realização da imunohistoquímica, buscando a biópsia inicial (e final, quando houvesse acompanhamento), de acordo com a disponibilidade do bloco para confecção das lâminas. Os casos foram montados em lâminas de vidro silanizadas Starfrost® (Knittel; Brownschweig, Alemanha) desparafinizadas e reidratadas por incubação em uma série de Xilol e álcool e lavadas com água destilada e PBS 1x. A

recuperação antigênica foi realizada em banho maria, utilizando tampão citrato (ácido cítrico 10, 0,05% Tween 20, pH 6,0) e o bloqueio dos sítios inespecíficos foi realizado com o bloqueador de proteína (DPB 125, Biogen, São Paulo, São Paulo, Brasil) por 10 min em temperatura ambiente dentro da câmara escura. Os cortes foram incubados durante a noite (12-18h) a 4°C com o anticorpo primário contra CK19 (anticorpo monoclonal de camundongo, clone A53-B/A2, Arigo Bio Laboratories), diluído a 1:100. Seguido de lavagens em PBS 1X, bloqueio da peroxidase endógena por 10 minutos, reagente complemento por 10 minutos e Reagente conjugado HRP (Biogen, São Paulo, São Paulo, Brasil) por 15 minutos e imersão em solução reveladora (diaminobenzidina/DAB) por 1 minuto. As lâminas foram coradas com hematoxilina de Mayer por 15 segundos, os cortes foram desidratados e a montagem foi feita com DPX (Sigma-Aldrich®; Saint Louis, MI).

#### 4.6 ANÁLISE DOS DADOS CLÍNICOS E SÓCIODEMOGRÁFICOS

A partir dos dados sóciodemográficos (gênero, idade, cor e tempo de evolução das lesões), da análise clínico-patológica, as lesões (LO e LVP) foram descritas individualmente e comparadas entre si, a fim de detectar características adicionais que contribuam para o seu diagnóstico e prognóstico.

Os dados foram coletados em ficha própria do estudo e armazenados em Excel (Microsoft Office®). Foram então transferidos para o programa SPSS® 20.0 e submetidos às análises descritivas por meio de médias, medianas e proporções, conforme a natureza das variáveis, bem como as análises de associação entre as variáveis estudadas e os grupos de lesões (Leucoplasia ou LVP), usando o teste do qui-quadrado, considerando o nível de significância de  $p < 0,05$ , as decisões estatísticas foram tomadas.

#### 4.7 ANÁLISE DA MARCAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA

Todos os cortes foram analisados em busca de uma marcação acastanhada citoplasmática, o que indica positividade, nas diferentes camadas do epitélio oral, e de forma quantitativa. Em caso de marcação negativa, a reação imunohistoquímica foi feita novamente para confirmar os achados.

A análise da expressão da CK 19 foi feita de forma descritiva, de acordo com a camada marcada (basal e parabasal ou camada espinhosa ou camada superficial), a

distribuição foi classificada como focal (positividade esparsa, que não atinge muito ceratinócitos) ou difusa (representada por positividade sobre um campo contínuo e grande parte do epitélio ou ainda em colunas), localização celular (citoplasmática e/ou membranar) e se negativa ou positiva (quando positiva, se estava em área ceratinizada ou não).

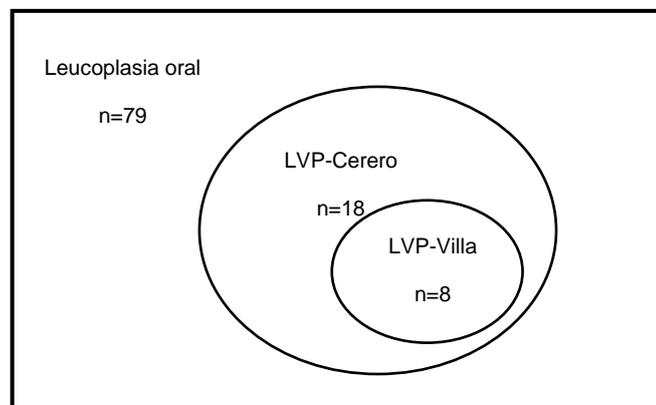
Para a análise quantitativa, foram feitas capturas de três campos da área mais marcada (*hot spot*) da lâmina, utilizando microscópio Olympus DP73 (California EUA) e programa de imagens Olympus Standard cellSens (California, EUA), com a objetiva 40x e salvando as imagens no formato jpg. Essas imagens foram importadas para o programa Image J<sup>®</sup> (domínio público, disponível em: <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>) e aplicado o *plugin* “*Segmentation: Color Deconvolution*” com o vetor HDAB para a separação da coloração de fundo, hematoxilina e marcação para o DAB. As configurações do DAB foram realizadas para marcação positiva com a ferramenta “*Adjust: Threshold*” e as análises foram concluídas com a ferramenta “*Measure*”. Para cada seção, uma medida da área avaliada foi definida. Por fim, os dados foram armazenados no programa Microsoft Excel 2016 e uma média das três medidas foi obtida. A aquisição das imagens foi feita no Laboratório de Neuromorfologia e a análise quantitativa foi realizada no Laboratório de Biologia Celular do Desenvolvimento e Tumorigênese, do Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Foi verificada a associação entre as variáveis imunohistoquímicas e a LVP, segundo a classificação de Cerero *et al.*, e Villa *et al.*, por meio do teste do qui-quadrado, (valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos), utilizando o programa estatístico SPSS<sup>®</sup> 20.0.

## 5 RESULTADOS

Foram selecionados 97 casos com diagnóstico inicial LO, sendo 79 identificadas como LO e 18 classificadas como LVP. Todos os 18 casos se encaixaram nos critérios propostos por Cerero-Lapiedra *et al.* (2010), sendo denominados doravante de LVP-Cerero, e 8 se encaixaram simultaneamente nos critérios propostos por Cerero-Lapiedra *et al.* (2010) e Villa *et al.* (2018), sendo chamados de LVP-Villa (Figura 2).

**Figura 2** - Imagem representativa dos casos de leucoplasia oral e LVP



### 5.1 LEUCOPLASIA ORAL

#### 5.1.1 DADOS SÓCIODEMOGRÁFICOS

Dos casos selecionados, 79 pacientes apresentavam LO, sendo 42 (53,16%) do gênero feminino e 37 (46,84%) do gênero masculino. A idade média foi de 55,66 anos, variando entre 30 e 84 anos de idade. Trinta e cinco (44,30%) eram leucoderma, 25 (31,65%) pardos, 14 (17,72%) melanodermas e em 5 (6,33%) não havia informações. O tempo médio de evolução das lesões foi de 21,15 meses, sendo o mínimo de 15 dias e o máximo de 5 anos de evolução. O tempo médio de acompanhamento desses pacientes foi de 10,5 meses, variando de 1 a 70 meses. Cinquenta e quatro (68,35%) pacientes apresentaram biópsias únicas e 25 (31,65%) pacientes apresentaram biópsias múltiplas (Tabela 1).

Em relação aos hábitos, 34 (43,04%) pacientes eram tabagistas, 24 (30,38%) não tabagistas, 6 (7,59%) ex-tabagistas e em 15 casos (18,99%) não havia informações. Vinte (25,32%) pacientes faziam uso de bebidas alcoólicas, 29 (36,71%) não faziam uso, 7 (8,86%) eram ex-usários e em 23 (29,11%) não havia informações.

A ausência de sintomas (37– 46,84%) foi relatada pela maioria dos pacientes (Tabela 1).

**Tabela 1** - Análise comparativa dos dados sóciodemográficos entre leucoplasia oral e LVP

|                                     | Leucoplasia oral<br>(79 pacientes)<br>n (%) | LVP-Cerero<br>(18 pacientes)<br>n (%) | LVP-Villa<br>(8 pacientes)<br>n (%) |
|-------------------------------------|---|---------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Gênero</b>                       |   |                                       |                                     |
| Masculino                           | 37 (46,84)                                  | 3 (16,17)                             | 2 (25)                              |
| Feminino                            | 42 (53,16)                                  | 15 (83,33)                            | 6 (75)                              |
| <b>Cor</b>                          |   |                                       |                                     |
| Leucoderma                          | 35 (44,30)                                  | 10 (55,56)                            | 4 (50)                              |
| Pardo                               | 25 (31,65)                                  | 7 (38,89)                             | 4 (50)                              |
| Melanoderma                         | 14 (17,72)                                  | 1 (5,55)                              | 0                                   |
| Não informado                       | 5 (6,33)                                    | 0                                     | 0                                   |
| <b>Biópsias</b>                     |   |                                       |                                     |
| Únicas                              | 54 (68,35)                                  | 5 (27,78)                             | 6 (75)                              |
| Múltiplas                           | 25 (31,65)                                  | 13 (72,22)                            | 2 (25)                              |
| <b>Sintomas</b>                     |   |                                       |                                     |
| Assintomático                       | 37 (46,84)                                  | 5 (27,78)                             | 2 (25)                              |
| Dor                                 | 7 (8,86)                                    | 3 (16,67)                             | 1 (12,5)                            |
| Ardência                            | 6 (7,59)                                    | 4 (22,22)                             | 2 (25)                              |
| Desconforto                         | 1 (1,27)                                    | 1 (5,55)                              | 0                                   |
| Dor e ardência                      | 2 (2,53)                                    | 1 (5,55)                              | 0                                   |
| Não informado                       | 26 (32,91)                                  | 4 (22,22)                             | 3 (37,5)                            |
| <b>Hábitos – tabagismo</b>          |   |                                       |                                     |
| Sim                                 | 34 (43,04)                                  | 4 (22,22)                             | 3 (37,5)                            |
| Não                                 | 24 (30,38)                                  | 12 (66,67)                            | 3 (37,5)                            |
| Ex                                  | 6 (7,59)                                    | 2 (11,11)                             | 2 (25)                              |
| Não informado                       | 15 (18,99)                                  | 0                                     | 0                                   |
| <b>Hábitos – ingestão de álcool</b> |   |                                       |                                     |
| Sim                                 | 20 (25,32)                                  | 5 (27,78)                             | 2 (25)                              |
| Não                                 | 29 (36,71)                                  | 11 (61,11)                            | 4 (50)                              |
| Ex                                  | 7 (8,86)                                    | 2 (11,11)                             | 2 (25)                              |
| Não informado                       | 23 (29,11)                                  | 0                                     | 0                                   |

Observou-se que dois pacientes com diagnóstico de LO apresentavam outras lesões malignas concomitantes. Uma paciente do sexo feminino apresentava CCE e o outro paciente do sexo masculino apresentava carcinoma *in situ*.

### 5.1.2 DADOS CLÍNICOS

Foram selecionadas 112 lâminas de 79 pacientes com leucoplasia oral. Os sítios mais acometidos foram: mucosa jugal (30 – 25,86%), rebordo gengival (29 – 25%) e língua (20 – 17,24%). Com predileção pelo lado esquerdo (48 – 42,86%). Em

12 (10,71%) casos não foi possível definir o lado acometido por falta de dados nas fichas e prontuários (Tabela 2).

Sobre os aspectos da lesão, de acordo com os dados colhidos nos prontuários e requisições, 77 (68,75%) se apresentam como placas, 15 (13,39%) com outras características (mancha, séssil, pediculada, nódulo, pápula, crosta e ulcerada) e 20 (17,86%) não foram descritas. A maioria das lesões eram brancas (94 – 83,93%), seguida das lesões que se apresentavam vermelha e branca simultaneamente (9 – 8,04%), normocrômica (4 – 3,57%), vermelha (1 – 0,89%), acastanhada (1 – 0,89%) e em 3 não havia informações. Quinze lesões (13,39%) se apresentavam lisas enquanto outras 49 (43,75%) se apresentavam com a superfície verrucosa, ou irregular, ou corrugada ou rugosa e outras 48 (42,86%) não foram especificadas. O tamanho médio das lesões foi 1,6 cm, variando de 0,3 cm a 5,0 cm. Em 26 (63,39%) requisições não foram informadas o tamanho das lesões (Tabela 2).

**Tabela 2** - Análise comparativa dos dados clínicos entre leucoplasia oral e LVP

|                                | <b>Leucoplasia oral<br/>(112 lâminas)<br/>n (%)</b> | <b>LVP-Cerero<br/>(54 lâminas)<br/>n (%)</b> | <b>LVP-Villa<br/>(26 lâminas)<br/>n (%)</b> |
|--------------------------------|---|--|---|
| <b>Sítios acometidos</b>       |   |  |   |
| Mucosa jugal                   | 30 (25,86)  | 13 (24,07)                                   | 12 (42,86)                                  |
| Rebordo gengival               | 29 (25)   | 7 (12,96)                                    | 4 (14,29)                                   |
| Língua                         | 20 (17,24)  | 21 (38,89)                                   | 4 (14,29)                                   |
| Mucosa labial                  | 13 (11,21)  | 7 (12,96)                                    | 6 (21,43)                                   |
| Palato duro                    | 9 (7,76)  | 0  | 0   |
| Palato mole                    | 9 (7,76)  | 1 (1,85)                                     | 0   |
| Assoalho                       | 3 (2,59)  | 0  | 0   |
| Fundo de vestíbulo             | 3 (2,59)  | 5 (9,26)                                     | 2 (7,14)                                    |
| <b>Lado acometido</b>          |   |  |   |
| Esquerdo                       | 48 (42,86)  | 23 (42,59)                                   | 2 (7,69)                                    |
| Direito                        | 42 (37,50)  | 17 (31,48)                                   | 9 (34,62)                                   |
| Linha média                    | 8 (7,14)  | 12 (22,22)                                   | 0   |
| Direito e linha média          | 0   | 1 (1,85)                                     | 2 (7,69)                                    |
| Bilateral                      | 2 (1,79)  | 1 (1,85)                                     | 13 (50)                                     |
| Não informado                  | 12(10,71)   | 0  | 0   |
| <b>Característica da lesão</b> |   |  |   |
| Placa                          | 77 (68,75)  | 44 (81,48)                                   | 24 (92,31)                                  |
| Outras                         | 15 (13,39)  | 9 (16,67)                                    | 2 (7,69)                                    |
| Não informado                  | 20 (17,86)  | 1 (1,85)                                     | 0   |
| <b>Cor da lesão</b>            |   |  |   |
| Branca                         | 94 (83,93)  | 49 (90,74)                                   | 24 (92,31)                                  |
| Vermelha                       | 1 (0,89)  | 1 (1,85)                                     | 0   |
| Branca e vermelha              | 9 (8,04)  | 3 (5,56)                                     | 2 (7,69)                                    |
| Normocrômica                   | 4 (3,57)  | 1 (1,85)                                     | 0   |
| Acastanhada                    | 1 (0,89)  | 0  | 0   |
| Não informado                  | 3 (2,68)  | 0  | 0   |

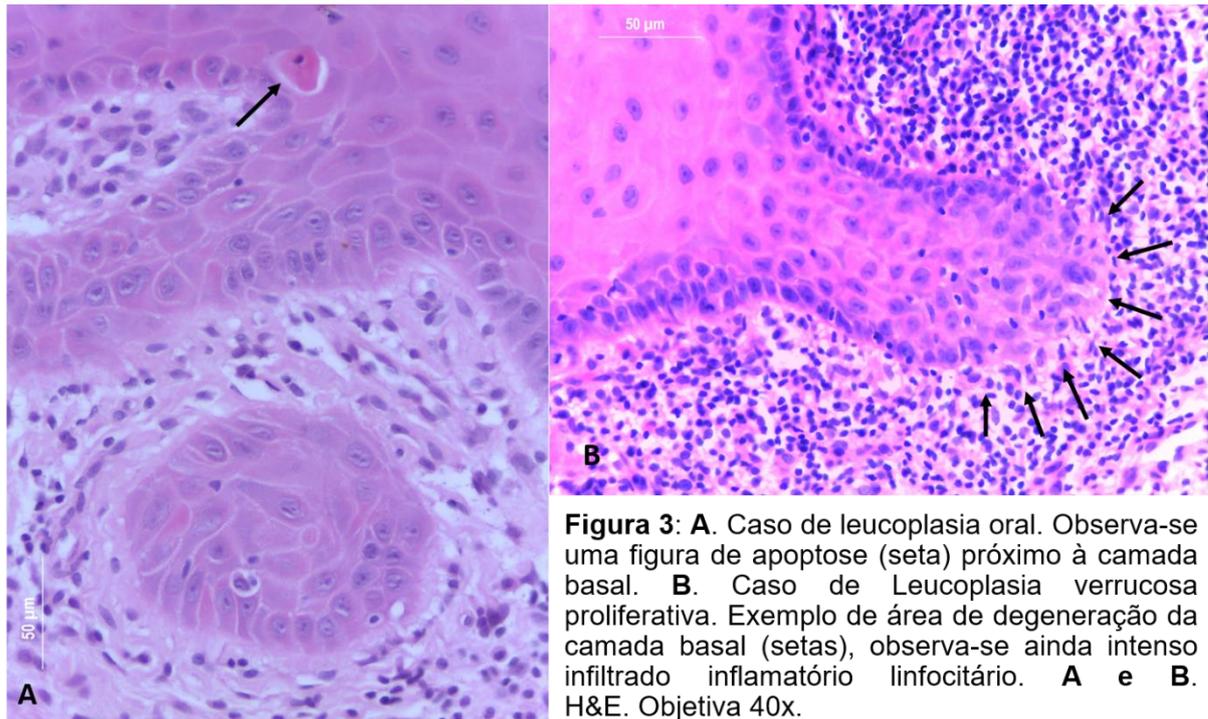
Continua

|                            | Conclusão                                  |                                     |                                    |
|----------------------------|--|-------------------------------------|------------------------------------|
|                            | Leucoplasia oral<br>(112 lâminas)<br>n (%) | LVP-Cerero<br>(54 lâminas)<br>n (%) | LVP-Villa<br>(26 lâminas)<br>n (%) |
| <b>Superfície da lesão</b> |  |                                     |                                    |
| Lisa                       | 15 (13,39)                                 | 11 (20,37)                          | 9 (34,62)                          |
| Outras                     | 49 (43,75)                                 | 38 (70,37)                          | 17 (65,38)                         |
| Não informado              | 48 (42,86)                                 | 5 (9,26)                            | 0                                  |

### 5.1.3 DADOS HISTOPATOLÓGICOS

Foram realizadas avaliação histopatológica em 112 lâminas de LO, correspondentes às biópsias dos 79 pacientes descritos acima. Vinte e seis (23,21%) lâminas apresentavam ortoceratinização, 27 (24,11%) apresentavam paraceratinização e 59 (52,68%) apresentaram orto e paraceratinização simultaneamente. A camada granulosa estava presente em 85 (78,89%) lâminas e ausente em 27 (24,11%). Em relação ao tipo de crista, o tipo mais predominante foram as que se apresentavam hipertróficas e em gota simultaneamente (68 - 60,71%). A hiperplasia do epitélio esteve presente em 110 (98,21%) lâminas, com 104 (94,54%) apresentando acantose e duplicação da camada basal, 4 (3,64%) apresentando somente acantose e 2 (1,82%) apresentando somente duplicação da camada basal. Na maioria das lâminas não foi possível observar degeneração da camada basal (74 - 60,07%) (Figura 3). Em 20 (17,86%) lâminas foi possível observar a presença de apoptose (Figura 3) e em 51 (45,54%) foi possível observar a presença de células sugestivas de coilócitos. A displasia epitelial esteve presente em 108 (96,43%) lâminas, dessas 42 (38,89%) eram leve, 64 (59,26%) moderada e 2 (1,85%) severa. O infiltrado inflamatório esteve ausente em 7 (6,25%) lâminas e presente nas outras 105 (93,75%), sendo o leve o predominante (60 - 57,14%). A distribuição do infiltrado foi avaliada em 108 lâminas, sendo 71 (65,74%) lâminas com infiltrado difuso e 37 (34,26%) com infiltrado focal (Tabela 3).

**Figura 3** - Caso de LO e LVP, respectivamente, demonstrando os achados histopatológicos



**Tabela 3 -** Análise comparativa dos dados histopatológicos entre leucoplasia oral e LVP

|                                      | <b>Leucoplasia oral<br/>(112 lâminas)<br/>n (%)</b> | <b>LVP-Cerero<br/>(53 lâminas)<br/>n (%)</b> | <b>LVP-Villa<br/>(25 lâminas)<br/>n (%)</b> |
|--------------------------------------|---|--|---|
| <b>Tipo de ceratinização</b>         |   |  |   |
| Ortoceratina                         | 26 (23,21)  | 16 (30,19)                                   | 12 (48)                                     |
| Paraceratina                         | 27 (24,11)  | 14 (26,41)                                   | 1 (4)                                       |
| Orto e paraceratina                  | 59 (52,68)  | 23 (43,40)                                   | 12 (48)                                     |
| <b>Aquisição da camada granulosa</b> |   |  |   |
| Sim                                  | 85 (78,89)  | 45 (84,91)                                   | 24 (96)                                     |
| Não                                  | 27 (24,11)  | 8 (15,09)                                    | 1 (4)                                       |
| <b>Tipo de crista epitelial</b>      |   |  |   |
| Hipertrófica                         | 26 (23,21)  | 5 (9,43)                                     | 4 (16)                                      |
| Atrófica                             | 2 (1,79)  | 0  | 0   |
| Hipertrófica e em gota               | 68 (60,71)  | 41 (77,36)                                   | 18 (72)                                     |
| Hipertrófica e atrófica              | 10(8,93)  | 4 (7,55)                                     | 2 (8)                                       |
| Hipertrófica, atrófica e em gota     | 6 (5,36)  | 3 (5,66)                                     | 1 (4)                                       |
| <b>Hiperplasia do epitélio</b>       |   |  |   |
| Com hiperplasia                      | 110 (98,21)   | 52 (98,11)                                   | 24 (96)                                     |
| Acantose                             | 4 (3,64)  | 1 (1,92)                                     | 0   |
| Duplicação da basal                  | 2 (1,82)  | 0  | 0   |
| Acantose e duplicação da basal       | 104 (94,54)   | 51 (98,08)                                   | 24 (96)                                     |
| Sem hiperplasia                      | 2 (1,79)  | 1 (1,89)                                     | 1 (4)                                       |
| <b>Degeneração da camada basal</b>   |   |  |   |
| Sim                                  | 38 (33,93)  | 27 (50,94)                                   | 12 (48)                                     |
| Não                                  | 74 (60,07)  | 26 (49,06)                                   | 13 (52)                                     |

Continua

## Conclusão

|                                   | <b>Leucoplasia oral<br/>(112 lâminas)<br/>n (%)</b> | <b>LVP-Cerero<br/>(53 lâminas)<br/>n (%)</b> | <b>LVP-Villa<br/>(25 lâminas)<br/>n (%)</b> |
|-----------------------------------|---|--|---|
| <b>Presença de coilocitose</b>    |   |  |   |
| Sim                               | 51 (45,54)  | 45 (84,91)                                   | 19 (76)                                     |
| Não                               | 61 (54,46)  | 8 (15,09)                                    | 6 (24)                                      |
| <b>Displasia epitelial</b>        |   |  |   |
| Com displasia                     | 108 (96,43)   | 53 (100)                                     | 25 (100)                                    |
| Leve                              | 42 (38,89)  | 17 (32,08)                                   | 6 (24)                                      |
| Moderada                          | 64 (59,26)  | 33 (62,26)                                   | 18 (72)                                     |
| Severa                            | 2 (1,85)  | 3 (5,66)                                     | 1 (4)                                       |
| Sem displasia                     | 4 (3,57)  | 0  | 0   |
| <b>Distribuição do infiltrado</b> |   |  |   |
| Difuso                            | 71 (65,74)  | 46 (88,46)                                   | 24 (96)                                     |
| Focal                             | 37 (34,26)  | 6 (11,54)                                    | 1 (4)                                       |
| <b>Intensidade do infiltrado</b>  |   |  |   |
| Presente                          | 105 (93,75)   | 52 (98,11)                                   | 25 (100)                                    |
| Leve                              | 60 (57,14)  | 23 (44,23)                                   | 9 (36)                                      |
| Intermediário                     | 36 (34,29)  | 21 (40,38)                                   | 10 (40)                                     |
| Forte                             | 9 (8,57)  | 8 (15,38)                                    | 6 (24)                                      |
| Ausente                           | 7 (6,25)  | 1 (1,89)                                     | 0   |

## 5.2 LVP

Dezoito casos foram classificados em LVP utilizando os critérios propostos por Cerero-Lapiedra *et al.* (2010) e Villa *et al.* (2018).

Na figura 4, observa-se os aspectos clínicos iniciais da lesão de LVP e após 5 anos de acompanhamento. Na figura 5, observa-se os aspectos clínicos da LVP.

**Figura 4** - Aspectos clínicos iniciais da LVP e após 5 anos de acompanhamento



**Figura 4:** Aspectos clínicos da LVP ao longo do acompanhamento. **A, B, C e D.** Aspecto clínico inicial. **A.** Mucosa jugal direita. **B.** Fundo de vestibulo. **C.** Lábio inferior. **D.** Mucosa jugal esquerda. **E, F, G e H.** Aspecto clínico observado após 5 anos. **E.** Mucosa jugal direita. **F.** Fundo de vestibulo. **G.** Lábio inferior. **H.** Mucosa jugal esquerda. Fonte: Núcleo de Diagnóstico Bucal/NDB-UFES.

**Figura 5** - Aspectos clínicos da LVP



**Figura 5:** Imagens típicas dos casos de LVP incluídos no estudo. **A.** Placa leucoplásica em dorso de língua. **B e C.** Placas espessas e verrucosas em língua. **D.** Além da placa observa-se uma região nodular em dorso de língua posterior. **E.** Placa verrucosa, de contornos irregulares em mucosa jugal. **F.** Há placas brancas e espessas, bem como um nódulo de superfície verrucosa em lábio inferior. Fonte: Núcleo de Diagnóstico Bucal/NDB-UFES.

### 5.2.1 CLASSIFICAÇÕES

Dos 18 casos classificados em LVP, todos se enquadraram nos critérios propostos por Cerero-Lapiedra et al. e somente 8 destes se enquadraram nos critérios proposto por Villa *et al.* (2018), sendo que todos esses eram também LVP de acordo com Cerero-Lapiedra *et al.* (2010) (Figura 2).

### 5.2.2 DADOS SÓCIODEMOGRÁFICOS LVP-CERERO

Foram selecionados 18 casos de LVP-Cerero, sendo 15 (83,33%) do gênero feminino e 3 (1,17%) do gênero masculino, com idade média de 61,22 anos, variando entre 44 e 90 anos. A maioria eram pacientes leucoderma (10 – 55,56%), seguido dos pardos (7 – 38,89%) e melanodermas (1 – 5,55%). O tempo médio de evolução dessas lesões relatado pelo paciente foi de 41,29 meses, variando de 2 a 120 meses. O tempo médio de acompanhamento desses pacientes foi de 24, 59 meses, variando de 6 a 71 meses (Tabela 1).

Em relação aos hábitos, 4 (22,22%) eram tabagistas, 12 (66,67%) não tabagista e 2 (11,11%) ex-tabagistas. Cinco pacientes (27,78%) faziam uso de bebidas alcoólicas, 11 (61,11%) não faziam uso e 2 (11,11%) eram ex-usários de bebidas alcoólicas. Em 13 (72,22%) pacientes foram realizadas biópsias múltiplas e em 5 (27,78%) biópsias únicas. A ausência de sintomas (5 – 27,78%) foi relatada pela maioria dos pacientes (Tabela 1).

Observou-se que houve transformação maligna de 2 casos de LVP. Em um caso, paciente do sexo feminino, inicialmente classificada como LVP atendendo os critérios propostos por Cerero *et al.* (2010) (4 critérios maiores e 3 menores) em um período de 3 anos de acompanhamento apresentou transformação maligna com diagnóstico de CCE moderadamente diferenciado. Um segundo caso, paciente do sexo masculino, apresentou diagnóstico inicial de CCE bem diferenciado em ventre de língua no ano de 2013. Um ano após diagnóstico inicial foi realizada nova biópsia em borda de língua com diagnóstico de LVP de acordo com os critérios de Cerero *et al.* (2010) (3 critérios maiores e 2 menores) que sofreu transformação maligna no período de um ano, com diagnóstico de CCE bem diferenciado.

### 5.2.3 DADOS CLÍNICOS LVP-CERERO

Foram selecionadas 54 lâminas de 18 pacientes com LVP, e 2 (11,11%) sofreram transformação maligna das lesões. Os sítios mais acometidos foram língua (21 – 38,89%) e mucosa jugal (13 – 24,07%), sendo o lado esquerdo o mais acometido (23 – 42,59%) (Tabela 2).

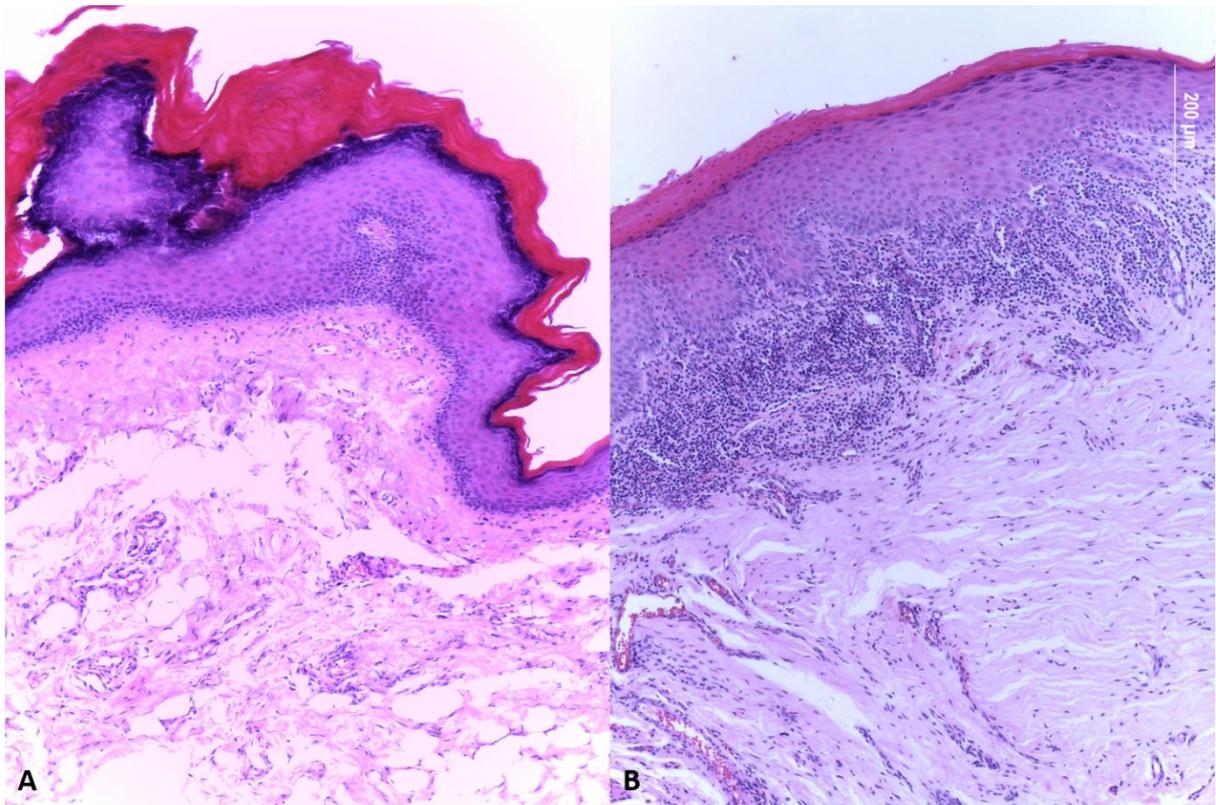
Sobre os aspectos da lesão, de acordo com os dados colhidos nos prontuários e requisições, 44 (81,48%) se apresentam como placas, e 9 (16,67%) com outras características (mancha, séssil e exofítica) e 1 (1,85%) não foram descritas. A maioria

das lesões eram brancas (49 – 90,74%), seguida das lesões que se apresentavam vermelha e branca simultaneamente (3 – 5,56%), Normocrômica (1 – 1,85%) e vermelha (1 – 1,85%). Onze (20,37%) lesões se apresentavam lisas enquanto outras 38 (70,37%) se apresentavam com a superfície verrucosa, ou irregular, ou corrugada ou rugosa e outras 5 (9,26%) não foram especificadas. O tamanho médio das lesões foi 1,76 cm, variando de 0,3 cm a 4,0 cm (Tabela 2).

#### 5.2.4 DADOS HISTOPATOLÓGICOS LVP-CERERO

Foram realizadas avaliação histopatológica em 53 lâminas de LVP, pois uma lâmina não foi encontrada no arquivo. Dezesesseis (30,19%) lâminas apresentavam ortoceratinização, 14 (26,41%) apresentavam paraceratinização e 23 (43,40%) apresentaram orto e paraceratinização simultaneamente. A aquisição da camada granulosa esteve presente na maioria das lâminas avaliadas (45 - 84,91%). Em relação ao tipo de crista, a maior parte das lâminas se apresentavam hipertróficas e em gota simultaneamente (41 - 77,36%). A hiperplasia do epitélio esteve presente em 52 lâminas, com 51 (98,08%) apresentando acantose e duplicação da camada basal e 1 (1,89%) apresentando somente acantose. Vinte e sete (50,94%) lâminas apresentaram degeneração da camada basal e 26 (49,06%) não apresentaram. Em 18 (33,96%) lâminas foi possível observar a presença de apoptose e em 45 (84,91%) foi possível observar a presença de coilócitos. A displasia epitelial esteve presente em todas as lâminas, sendo a maioria displasia moderada (33 - 62,26%). O infiltrado inflamatório esteve ausente em 1 (1,89%) lâmina e presente nas outras 52 (98,11%), sendo o leve o mais predominante (23 - 44,23%). Em 52 lâminas foram possíveis observar a distribuição do infiltrado, sendo 46 (88,46%) lâminas a distribuição foi difusa e em 6 (11,54%) foi focal (Tabela 3) (Figura 6).

**Figura 6** - Características histopatológicas da LVP



**Figura 6:** Características histopatológicas da leucoplasia verrucosa proliferativa. **A.** Presença de ortoceratina, camada granulosa e infiltrado inflamatório leve. **B.** Presença de orto e paraceratina e infiltrado inflamatório difuso, em banda e forte. **A e B.** H&E. Objetiva 10x.

#### 5.2.5 DADOS SÓCIODEMOGRÁFICOS LVP-VILLA

Foram selecionados 18 casos de LVP, sendo 6 (75%) do gênero feminino e 2 (25%) do gênero masculino, com idade média de 57,75 anos, variando entre 44 e 80 anos. Atingindo pacientes leucoderma (4 – 50%) e pardos (4 – 50%) igualmente. O tempo médio de evolução dessas lesões relatado pelo paciente foi de 54,80 meses, variando de 2 a 96 meses. O tempo médio de acompanhamento desses pacientes foi de 24,75 meses, variando de 6 a 71 meses (Tabela 1).

Em relação aos hábitos, 3 (37,5%) eram tabagistas, assim como os não tabagistas (3 – 37,5%) e 2 (11,11%) eram ex-tabagistas. Dois pacientes (25%) faziam uso de bebidas alcoólicas, 4 (50%) não faziam uso e 2 (25%) eram ex-usários de bebidas alcoólicas. Em 2 (25%) pacientes foram realizadas biópsias múltiplas e em 6

(75%) biópsias únicas. A ausência de sintomas (5 – 27,78%) foi relatada pela maioria dos pacientes (Tabela 1).

#### 5.2.6 DADOS CLÍNICOS LVP-VILLA

Foram selecionadas 26 lâminas de 8 pacientes com LVP-Villa. O sítio mais acometido foi a mucosa jugal (12 – 42,86%), sendo bilateralmente (13 – 50%) o local mais acometido (Tabela 2).

Sobre os aspectos da lesão, de acordo com os dados colhidos nos prontuários e requisições, a maioria se se apresentam como placas (24 – 92,31%), e 2 (7,69%) com outras características (mancha, séssil e exofítica). A maioria das lesões eram brancas (24 – 92,31%), e somente 2 (7,69%) se apresentavam vermelha e branca simultaneamente. Nove (34,62%) lesões se apresentavam lisas enquanto outras 17 (65,38%) se apresentavam com a superfície verrucosa, ou irregular, ou corrugada ou rugosa. O tamanho médio das lesões foi 2,41 cm, variando de 0,3 cm a 6,0 cm (Tabela 2).

#### 5.2.7 DADOS HISTOPATOLÓGICOS LVP-VILLA

Foram realizadas avaliação histopatológica em 25 lâminas de LVP, pois uma lâmina não foi encontrada no arquivo. Doze (48%) lâminas apresentavam ortoceratinização, igualmente para orto e paraceratinização simultaneamente (12 – 48%) e apenas 1 (4%) apresentava paraceratinização. A aquisição da camada granulosa esteve presente na maioria das lâminas avaliadas (24 - 96%). Em relação ao tipo de crista, a maior parte das lâminas se apresentavam hipertróficas e em gota simultaneamente (18 - 72%). A hiperplasia do epitélio esteve presente em 24 lâminas, com as 24 (96%) apresentando acantose e duplicação da camada basal simultaneamente. Doze (48%) lâminas apresentaram degeneração da camada basal e 13 (52%) não apresentaram. Em 7 (28%) lâminas foi possível observar a presença de apoptose e em 19 (76%) foi possível observar a presença de células sugestivas de coilócitos. A displasia epitelial esteve presente em todas as lâminas, sendo a maioria displasia moderada (18 - 72%). O infiltrado inflamatório esteve presente em todas as 25 lâminas, sendo o intermediário (10 – 40%) o mais predominante. Em todas as lâminas foi possível observar a distribuição do infiltrado, sendo 24 (96%) com distribuição foi difusa e apenas 1 (4%) com distribuição focal (Tabela 3).

## 5.2.8 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA

### 5.2.8.1 ANÁLISE DESCRITIVA

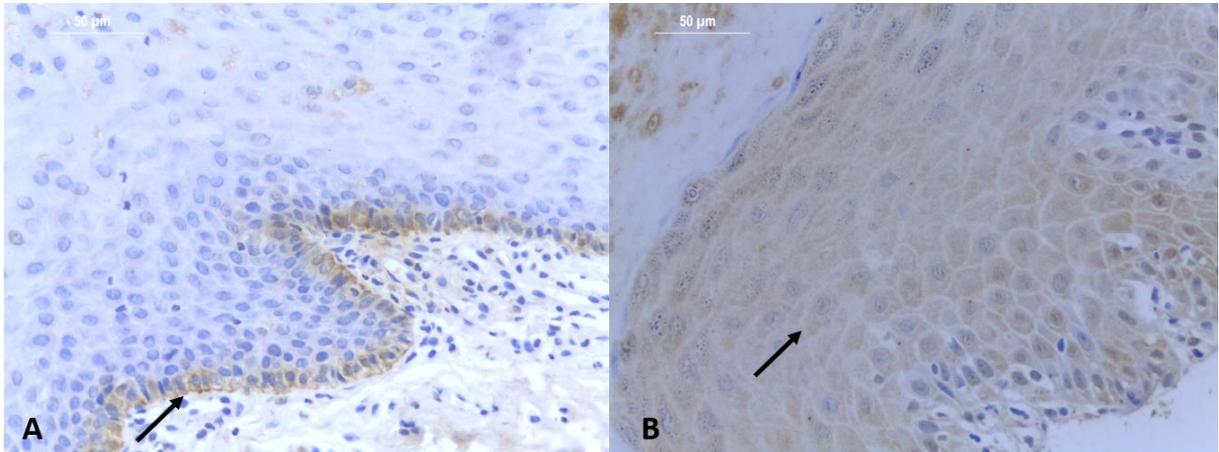
Foi realizada a reação imunohistoquímica em 26 lâminas de 17 pacientes, sendo 1 excluída, pois o corte se soltou da lâmina durante o processamento. Das 25 lâminas processadas, apenas 1 foi negativa para a imunomarcação.

Nas outras lâminas foi observada a positividade sob a forma de uma imunomarcação acastanhada. A imunomarcação foi citoplasmática em 14 (58,33%) lâminas e citoplasmática e membranar simultaneamente em 10 (41,67%) lâminas. Dezesete (70,83%) lâminas apresentaram marcação difusa e 7 (29,17%) apresentaram marcação focal, sendo que 4 (16,67%) apresentaram intensidade de marcação fraca, 17 (70,83%) moderada e 3 (12,5%) forte. A positividade de marcação esteve presente na camada basal em 1 (4,17%) lâmina, na camada basal e camada espinhosa simultaneamente em 4 (16,67%), na camada espinhosa e camada superficial simultaneamente em 8 (33,33%) e em todas as camadas simultaneamente em 11 (45,83%) lâminas (Tabela 4) (Figura 7).

**Tabela 4** - Análise descritiva da imuno-histoquímica das LVP

| Variável                | Categorias                     | LVP-Cerero |       | LVP-Villa |       |
|-------------------------|--------------------------------|------------|-------|-----------|-------|
|                         |                                | n=24       | %     | n=12      | %     |
| <b>Distribuição</b>     | Difusa                         | 17         | 70,83 | 9         | 75    |
|                         | Focal                          | 7          | 29,17 | 3         | 25    |
| <b>Tipo de marcação</b> | Citoplasmática                 | 14         | 58,33 | 8         | 66,67 |
|                         | Citoplasmática e membranar     | 10         | 41,67 | 4         | 33,33 |
| <b>Camadas marcadas</b> | Basal                          | 1          | 4,17  | 0         | 0     |
|                         | Basal e espinhosa              | 4          | 16,67 | 1         | 8,33  |
|                         | Basal, espinhosa e superficial | 11         | 45,83 | 6         | 50    |
|                         | Superficial e especial         | 8          | 33,33 | 5         | 41,67 |

### Figura 7 - Aspectos imunohistoquímicos da LVP



**Figura 7-** Expressão imunohistoquímica da CK19 nas LVP. **A.** Imunomarcacão acastanhada da camada basal (seta: marcação membranar) com marcação difusa e moderada. **B.** Imunomarcacão acastanhada da camada basal e espinhosa (seta: marcação citoplasmática) com marcação difusa e moderada. **A e B.** Objetiva 40x.

#### 5.2.8.2 ANÁLISE QUANTITATIVA

A análise quantitativa realizada em 24 lâminas processadas, apresentou uma média geral de marcação de 1,69 e um desvio padrão de 0,65. Já quando avaliamos separadamente as LVP-Villa, observamos uma média de marcação de 1,98 e um desvio padrão de 0,72.

#### 5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA COMPARATIVA ENTRE LEUCOPLASIA ORAL E LVP

Ao se verificar a associação entre os diagnósticos de LO ou LVP e os dados clínicos e sociodemográficos, houve associação significativa do gênero feminino com LVP-Cerero ( $p=0,032$ ). Quando foi analisado o tempo de evolução das lesões, os pacientes com LVP-Cerero apresentaram associação com o intervalo de tempo de 13 a 60 meses, enquanto os pacientes com leucoplasia oral apresentaram associação com o intervalo de 0 a 6 meses de evolução ( $p=0,07$ ). Por outro lado, houve associação da LVP-Villa, com o intervalo de 0 a 6 meses ( $p=0,025$ ). Quando o tempo de acompanhamento foi analisado, houve associação significativa da LVP-Cerero, com o intervalo de 15 a 30 meses ( $p=0,002$ ). Em relação ao local mais acometido, quando foi feita a análise por paciente, a mucosa jugal foi o local que demonstrou associação com a LVP-Villa ( $p=0,015$ ), enquanto que nos pacientes com LVP-Cerero, houve uma tendência de associação com a localização em língua ( $p=0,065$ ). Houve

associação da presença de biópsia única com o diagnóstico de leucoplasia quando comparada à LVP-Cerero ( $p=0,043$ ). Quando foi avaliado o uso do tabaco, houve uma tendência de associação da LVP-Cerero com a ocorrência de não tabagistas ( $p=0,067$ ). (Tabela 5).

**Tabela 5** - Análise estatística comparativa entre leucoplasia oral e LVP – dados sóciodemográficos e clínicos (análise por paciente)

| Variável                 | Categoria     | Leucoplasia |      | LVP Cerero |      | P-valor | Leucoplasia |      | LVP Villa |      | P-valor |
|--------------------------|---------------|-------------|------|------------|------|---------|-------------|------|-----------|------|---------|
|                          |               | n           | %    | n          | %    |         | n           | %    | n         | %    |         |
| Idade em 2 categorias    | até 60 anos   | 47          | 61,8 | 11         | 61,1 | 1       | 52          | 60,5 | 6         | 75   | 0,706   |
|                          | ≥60 anos      | 29          | 38,2 | 7          | 38,9 |         | 34          | 39,5 | 2         | 25   |         |
| Gênero                   | Feminino      | 37          | 46,8 | 3          | 16,7 | 0,032   | 38          | 42,7 | 2         | 25   | 0,464   |
|                          | Masculino     | 42          | 53,2 | 15         | 83,3 |         | 51          | 57,3 | 6         | 75   |         |
| Cor                      | Branco        | 35          | 47,3 | 10         | 55,6 | 0,387   | 41          | 48,8 | 4         | 50   | 0,365   |
|                          | Pardo         | 25          | 33,8 | 7          | 38,9 |         | 28          | 33,3 | 4         | 50   |         |
|                          | Negro         | 14          | 18,9 | 1          | 5,6  |         | 15          | 17,9 | 0         | 0    |         |
| Tabagismo                | Sim           | 34          | 53,1 | 4          | 22,2 | 0,067   | 35          | 47,3 | 3         | 37,5 | 0,408   |
|                          | Não           | 24          | 37,5 | 11         | 61,1 |         | 32          | 43,2 | 3         | 37,5 |         |
|                          | Ex            | 6           | 9,4  | 3          | 16,7 |         | 7           | 9,5  | 2         | 25   |         |
| Etilismo                 | Sim           | 20          | 35,7 | 5          | 27,8 | 0,781   | 23          | 34,8 | 2         | 25   | 0,485   |
|                          | Não           | 29          | 51,8 | 11         | 61,1 |         | 36          | 54,5 | 4         | 50   |         |
|                          | Ex            | 7           | 12,5 | 2          | 11,1 |         | 7           | 10,6 | 2         | 25   |         |
| Tempo de evolução        | 0 a 6 meses   | 25          | 49   | 5          | 27,8 | 0,007   | 27          | 44,3 | 3         | 37,5 | 0,025   |
|                          | 7 a 12 meses  | 12          | 23,5 | 2          | 11,1 |         | 13          | 21,3 | 1         | 12,5 |         |
|                          | 13 a 60 meses | 14          | 27,5 | 8          | 44,4 |         | 20          | 32,8 | 2         | 25   |         |
|                          | mais de 61    | 0           | 0    | 3          | 16,7 |         | 1           | 1,6  | 2         | 25   |         |
| Localização língua       | Sim           | 16          | 20,3 | 8          | 44,4 | 0,065   | 21          | 23,6 | 3         | 37,5 | 0,404   |
|                          | Não           | 63          | 79,7 | 10         | 55,6 |         | 68          | 76,4 | 5         | 62,5 |         |
| Localização assoalho     | Sim           | 4           | 5,1  | 0          | 0    | 1       | 4           | 4,5  | 0         | 0    | 1       |
|                          | Não           | 75          | 94,9 | 18         | 100  |         | 85          | 95,5 | 8         | 100  |         |
| Localização mucosa jugal | Sim           | 24          | 30,4 | 8          | 44,4 | 0,275   | 26          | 29,2 | 6         | 75   | 0,015   |
|                          | Não           | 55          | 69,6 | 10         | 55,6 |         | 63          | 70,8 | 2         | 25   |         |

Continua

## Conclusão

| Variável                       | Categoria      | Leucoplasia |      | LVP Cerero |      | P-valor | Leucoplasia |      | LVP Villa |      | P-valor |
|--------------------------------|----------------|-------------|------|------------|------|---------|-------------|------|-----------|------|---------|
|                                |                | n           | %    | n          | %    |         | n           | %    | n         | %    |         |
| Localização palato mole        | Sim            | 8           | 10,1 | 1          | 5,6  | 1       | 9           | 10,1 | 0         | 0    | 1       |
|                                | Não            | 71          | 89,9 | 17         | 94,4 |         | 80          | 89,9 | 8         | 100  |         |
| Localização palato duro        | Sim            | 9           | 11,4 | 0          | 0    | 0,202   | 9           | 10,1 | 0         | 0    | 1       |
|                                | Não            | 70          | 88,6 | 18         | 100  |         | 80          | 89,9 | 8         | 100  |         |
| Localização rebordo            | Sim            | 22          | 27,8 | 9          | 50   | 0,093   | 26          | 29,2 | 5         | 62,5 | 0,106   |
|                                | Não            | 57          | 72,2 | 9          | 50   |         | 63          | 70,8 | 3         | 37,5 |         |
| Localização mucosa labial      | Sim            | 11          | 13,9 | 4          | 22,2 | 0,469   | 12          | 13,5 | 3         | 37,5 | 0,104   |
|                                | Não            | 68          | 86,1 | 14         | 77,8 |         | 77          | 86,5 | 5         | 62,5 |         |
| Localização fundo de vestibulo | Sim            | 3           | 3,8  | 3          | 16,7 | 0,076   | 4           | 4,5  | 2         | 25   | 0,076   |
|                                | Não            | 76          | 96,2 | 15         | 83,3 |         | 85          | 95,5 | 6         | 75   |         |
| Tempo de acompanhamento        | 0 a 6 meses    | 13          | 38,2 | 1          | 5,9  | 0,002   | 13          | 30,2 | 1         | 12,5 | 0,121   |
|                                | 7 a 14 meses   | 14          | 41,2 | 4          | 23,5 |         | 17          | 39,5 | 1         | 12,5 |         |
|                                | 15 a 30 meses  | 6           | 17,6 | 7          | 41,2 |         | 9           | 20,9 | 4         | 50   |         |
|                                | ≥31 meses      | 1           | 2,9  | 5          | 29,4 |         | 4           | 9,3  | 2         | 25   |         |
| Sintomas                       | Assintomático  | 37          | 69,8 | 5          | 35,7 | 0,156   | 40          | 64,5 | 2         | 40   | 0,444   |
|                                | Dor            | 8           | 15,1 | 3          | 21,4 |         | 10          | 16,1 | 1         | 20   |         |
|                                | Ardência       | 5           | 9,4  | 4          | 28,6 |         | 7           | 11,3 | 2         | 40   |         |
|                                | Desconforto    | 1           | 1,9  | 1          | 7,1  |         | 2           | 3,2  | 0         | 0    |         |
|                                | Dor e ardência | 2           | 3,8  | 1          | 7,1  |         | 3           | 4,8  | 0         | 0    |         |
| Outras biópsias                | Sim            | 12          | 15,2 | 7          | 38,9 | 0,043   | 17          | 19,1 | 2         | 25   | 0,653   |
|                                | Não            | 67          | 84,8 | 11         | 61,1 |         | 72          | 80,9 | 6         | 75   |         |

Quando a análise foi feita por lâmina, houve a associação dos pacientes com LVP-Villa com lesões multifocais ( $p=0,016$ ), bem como uma tendência de associação com a mucosa jugal ( $p=0,061$ ), de forma similar, a língua estava significativamente associada à LVP-Cerero ( $p=0,015$ ) (Tabela 6).

**Tabela 6** - Análise estatística comparativa entre leucoplasia oral e LVP – dados clínicos (análise por lâmina)

| Variável                        | Categoria           | Leucoplasia |      | LVP Cerero |      | p-valor      | Leucoplasia |      | LVP Villa |      | p-valor      |
|---------------------------------|---------------------|-------------|------|------------|------|--------------|-------------|------|-----------|------|--------------|
|                                 |                     | n           | %    | n          | %    |              | n           | %    | n         | %    |              |
| <b>Sítios</b>                   | Unifocal            | 44          | 46,3 | 16         | 30,2 | <b>0,08</b>  | 55          | 45,1 | 5         | 19,2 | <b>0,016</b> |
|                                 | Multifocal          | 51          | 53,7 | 37         | 69,8 |              | 67          | 54,9 | 21        | 80,8 |              |
| <b>Localização</b>              | Mucosa labial       | 14          | 12,4 | 6          | 11,3 | <b>0,015</b> | 14          | 10   | 6         | 23,1 | 0,061        |
|                                 | Língua              | 20          | 17,7 | 21         | 39,6 |              | 37          | 26,4 | 4         | 15,4 |              |
|                                 | Rebordo             | 27          | 23,9 | 7          | 13,2 |              | 32          | 22,9 | 2         | 7,7  |              |
|                                 | Fundo de vestibulo  | 3           | 2,7  | 5          | 9,4  |              | 6           | 4,3  | 2         | 7,7  |              |
|                                 | Mucosa jugal        | 28          | 24,8 | 11         | 20,8 |              | 29          | 20,7 | 10        | 38,5 |              |
|                                 | Palato duro         | 8           | 7,1  | 0          | 0    |              | 8           | 5,7  | 0         | 0    |              |
|                                 | Palato mole         | 6           | 5,3  | 1          | 1,9  |              | 7           | 5    | 0         | 0    |              |
|                                 | Assoalho            | 3           | 2,7  | 0          | 0    |              | 3           | 2,1  | 0         | 0    |              |
| Mais de 1 local                 | 4                   | 3,5         | 2    | 3,8        | 4    | 2,9          | 2           | 7,1  |           |      |              |
| <b>Outros sítios acometidos</b> | Sim                 | 10          | 8,8  | 4          | 7,5  | 1            | 11          | 7,9  | 3         | 11,5 | 0,462        |
|                                 | Não                 | 103         | 91,2 | 49         | 92,5 |              | 129         | 92,1 | 23        | 88,5 |              |
| <b>Lados da lesão</b>           | Direito             | 19          | 22,6 | 10         | 18,9 | 0,071        | 20          | 18   | 9         | 34,6 | 0,063        |
|                                 | Esquerdo            | 20          | 23,8 | 12         | 22,6 |              | 30          | 27   | 2         | 7,7  |              |
|                                 | Bilateral           | 39          | 46,4 | 19         | 35,8 |              | 45          | 40,5 | 13        | 50   |              |
|                                 | Cruza a linha média | 6           | 7,1  | 12         | 22,6 |              | 16          | 14,4 | 2         | 7,7  |              |

Em relação ao tamanho das lesões, houve associação significativa de lesões categorizadas com menor tamanho com a leucoplasia, ( $p=0,041$ ), tanto quando comparada à LVP-Cerero ( $p=0,041$ ), quanto na comparação com LVP-Villa ( $p=0,035$ ) (Tabela 7). Observa-se que as lesões de maior tamanho se tornam mais frequentes nas LVP do que na leucoplasia.

**Tabela 7** - Análise estatística comparativa entre leucoplasia oral e LVP – dados de aspecto da lesão (análise por lâmina)

| Variável                       | Categoria | Leucoplasia |      | LVP Cerero |      | p-valor | Leucoplasia |      | LVP Villa |      | p-valor |
|--------------------------------|-----------|-------------|------|------------|------|---------|-------------|------|-----------|------|---------|
|                                |           | n           | %    | n          | %    |         | n           | %    | n         | %    |         |
| <b>Tipo de lesão</b>           | Placa     | 78          | 83,9 | 43         | 82,7 | 1       | 97          | 81,5 | 24        | 92,3 | 0,249   |
|                                | Outras    | 15          | 16,1 | 9          | 17,3 |         | 22          | 18,5 | 2         | 7,7  |         |
| <b>Cor da lesão (branca)</b>   | Sim       | 104         | 94,5 | 51         | 96,2 | 1       | 129         | 94,2 | 26        | 100  | 0,357   |
|                                | Não       | 6           | 5,5  | 2          | 3,8  |         | 8           | 5,8  | 0         | 0    |         |
| <b>Cor da lesão (vermelha)</b> | Sim       | 10          | 9,1  | 4          | 7,5  | 1       | 12          | 8,8  | 2         | 7,7  | 1       |
|                                | Não       | 100         | 90,9 | 49         | 92,5 |         | 125         | 91,2 | 24        | 92,3 |         |

Continua

## Conclusão

| Variável            | Categoria | Leucoplasia |      | LVP Cerero |      | p-valor | Leucoplasia |      | LVP Villa |      | p-valor |
|---------------------|-----------|-------------|------|------------|------|---------|-------------|------|-----------|------|---------|
|                     |           | n           | %    | n          | %    |         | n           | %    | n         | %    |         |
| Superfície da lesão | Lisa      | 15          | 23,4 | 11         | 22,4 | 1       | 17          | 19,5 | 9         | 34,6 | 0,119   |
|                     | Outras    | 49          | 16,6 | 38         | 77,6 |         | 70          | 80,5 | 17        | 65,4 |         |
| Tamanho da lesão    | 0 a 2,9   | 72          | 82,8 | 34         | 64,2 | 0,041   | 91          | 79,8 | 15        | 57,7 | 0,035   |
|                     | 3 a 3,9   | 9           | 10,3 | 10         | 18,9 |         | 14          | 12,3 | 5         | 19,2 |         |
|                     | ≥4        | 6           | 6,9  | 9          | 17,0 |         | 9           | 7,9  | 6         | 23   |         |

Quando foi feita a análise comparativa dos dados histopatológicos em relação ao diagnóstico de LVP ou LO, considerando-se todas as lâminas analisadas, foi observada associação significativa da presença de ortoceratina, associada ou não à paraceratina, com o diagnóstico de LVP-Villa ( $p=0,004$ ). Houve associação da presença da camada granulosa com LVP-Villa ( $p=0,003$ ). Quando se observou a degeneração da camada basal, houve associação da ausência de degeneração da basal com o diagnóstico de leucoplasia, quando comparado à LVP-Cerero ( $p=0,039$ ). Quanto a distribuição do infiltrado inflamatório, tanto as lâminas de LVP-Cerero quanto de LVP-Villa, estavam associadas à distribuição difusa ( $p=0,004$  e  $p=0,003$ , respectivamente) em relação à focal, sendo que a leucoplasia não demonstrou tal associação. Em relação a intensidade do infiltrado, as lâminas de LVP-Villa mostraram associação com a intensidade intermediária, enquanto que as lâminas de leucoplasia oral, mostraram associação com a intensidade leve ( $p=0,041$ ) (Tabela 8).

**Tabela 8** - Análise estatística comparativa entre leucoplasia oral e LVP – dados histopatológicos (análise por lâmina)

| Variável               | Categoria    | Leucoplasia |      | LVP Cerero |      | p-valor | Leucoplasia |      | LVP Villa |    | p-valor |
|------------------------|--------------|-------------|------|------------|------|---------|-------------|------|-----------|----|---------|
|                        |              | n           | %    | n          | %    |         | n           | %    | n         | %  |         |
| Tipo de ceratina       | Ortoceratina | 26          | 23   | 16         | 30,8 | 0,405   | 30          | 21,4 | 12        | 48 | 0,004   |
|                        | Paraceratina | 27          | 23,9 | 14         | 26,9 |         | 40          | 28,6 | 1         | 4  |         |
|                        | Orto e para  | 60          | 53,1 | 22         | 42,3 |         | 70          | 50   | 12        | 48 |         |
| Aquisição da granulosa | Presente     | 86          | 76,1 | 44         | 84,6 | 0,305   | 106         | 75,7 | 24        | 96 | 0,03    |
|                        | Ausente      | 27          | 23,9 | 8          | 15,4 |         | 34          | 24,3 | 1         | 4  |         |

Continua

## Conclusão

| Variável                   | Categoria                  | Leucoplasia |      | LVP Cerero |      | P-valor | Leucoplasia |      | LVP Villa |    | P-valor |
|----------------------------|----------------------------|-------------|------|------------|------|---------|-------------|------|-----------|----|---------|
|                            |                            | n           | %    | n          | %    |         | n           | %    | n         | %  |         |
| Tipo de crista epitelial   | Hiperplásica               | 26          | 23   | 5          | 9,6  | 0,143   | 27          | 19,3 | 4         | 16 | 0,944   |
|                            | Hiperplásica e em gota     | 68          | 60,2 | 41         | 78,8 |         | 91          | 65   | 18        | 72 |         |
|                            | Atrófica                   | 2           | 1,8  | 0          | 0    |         | 2           | 1,4  | 0         | 0  |         |
|                            | Hiperplásica e atrófica    | 11          | 9,7  | 3          | 5,8  |         | 12          | 8,6  | 2         | 8  |         |
|                            | Todas                      | 6           | 5,3  | 3          | 5,8  |         | 8           | 5,7  | 1         | 4  |         |
| Hiperplasia do epitélio    | Acantose e duplic da basal | 105         | 92,9 | 50         | 96,2 | 0,736   | 131         | 93,6 | 24        | 96 | 0,565   |
|                            | Acantose                   | 4           | 3,5  | 1          | 1,9  |         | 5           | 3,6  | 0         | 0  |         |
|                            | Duplic da basal            | 2           | 1,8  | 0          | 0    |         | 2           | 1,4  | 0         | 0  |         |
|                            | Sem hiperplasia            | 2           | 1,8  | 1          | 1,9  |         | 2           | 1,4  | 1         | 4  |         |
| Degeneração da basal       | Presente                   | 38          | 33,6 | 27         | 51,9 | 0,039   | 53          | 37,9 | 12        | 48 | 0,378   |
|                            | Ausente                    | 75          | 66,4 | 25         | 48,1 |         | 87          | 62,1 | 13        | 52 |         |
| Apoptose                   | Presente                   | 43          | 38,1 | 17         | 32,7 | 0,602   | 53          | 37,9 | 7         | 28 | 0,378   |
|                            | Ausente                    | 70          | 61,9 | 35         | 67,3 |         | 87          | 62,1 | 18        | 72 |         |
| Coilocitose                | Presente                   | 81          | 71,7 | 44         | 84,6 | 0,081   | 106         | 75,7 | 19        | 76 | 1       |
|                            | Ausente                    | 32          | 28,3 | 8          | 15,4 |         | 34          | 24,3 | 6         | 24 |         |
| Displasia epitelial        | Leve                       | 43          | 38,1 | 16         | 30,8 | 0,21    | 53          | 37,9 | 6         | 24 | 0,42    |
|                            | Moderada                   | 64          | 56,6 | 33         | 63,5 |         | 79          | 56,4 | 18        | 72 |         |
|                            | Severa                     | 2           | 1,8  | 3          | 5,8  |         | 4           | 2,9  | 1         | 4  |         |
|                            | Ausente                    | 4           | 3,5  | 0          | 0    |         | 4           | 2,9  | 0         | 0  |         |
| Distribuição do infiltrado | Difuso                     | 72          | 66,1 | 45         | 88,2 | 0,004   | 93          | 68,9 | 24        | 96 | 0,003   |
|                            | Focal                      | 37          | 33,9 | 6          | 11,8 |         | 42          | 31,1 | 1         | 4  |         |
| Intensidade do infiltrado  | Leve                       | 60          | 53,1 | 23         | 44,2 | 0,247   | 74          | 52,9 | 9         | 36 | 0,041   |
|                            | Intermediário              | 37          | 32,7 | 20         | 38,5 |         | 47          | 33,6 | 10        | 40 |         |
|                            | Forte                      | 9           | 8    | 8          | 15,4 |         | 11          | 7,9  | 6         | 24 |         |
|                            | Ausente                    | 7           | 6,2  | 1          | 1,9  |         | 8           | 5,7  | 0         | 0  |         |

#### 5.4 ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE PACIENTES QUE APRESENTARAM MAIS DE UMA BIÓPSIA EM MOMENTOS DIFERENTES

Nos pacientes que realizaram mais de uma biópsia com algum intervalo de tempo entre elas, foram realizadas análises comparativas em relação aos dados clínicos, histopatológicos e da imunohistoquímica das biópsias iniciais com as biópsias tardias.

Observou-se que a média de tamanho das lesões das biópsias iniciais foi maior (2,71 cm) do que a média do tamanho das lesões das biópsias tardias (1,74 cm). A

média de tempo decorrido entre elas (das efetivamente analisadas) foram 16 meses, sendo o mínimo 12 meses e o máximo 48 meses.

Houve sete casos em que foi possível fazer essa análise, todos classificados como LVP-Cerero e 4 classificados como LVP-Villa. A maioria manteve os mesmos parâmetros entre as análises ou piorou da primeira para a segunda biópsia (Tabela 9).

**Tabela 9** - Comparação dos dados obtidos com a 1ª biópsia com a biópsia subsequente

| Variável                       | Categoria                      | 1ª Biópsia |       | Biópsia subsequente |       |
|--------------------------------|--------------------------------|------------|-------|---------------------|-------|
|                                |                                | n          | %     | n                   | %     |
| <b>Aspecto clínico</b>         | Placa, branca, lisa            | 2          | 28,57 | 2                   | 28,57 |
|                                | placa, branca, irregular       | 5          | 71,43 | 5                   | 71,43 |
| <b>Displasia Epitelial</b>     | Leve                           | 2          | 28,57 | 1                   | 14,29 |
|                                | Moderada                       | 4          | 57,14 | 5                   | 71,43 |
|                                | Severa                         | 1          | 14,29 | 1                   | 14,29 |
| <b>Degeneração basal</b>       | Sim                            | 1          | 14,29 | 6                   | 85,71 |
|                                | Não                            | 6          | 85,71 | 1                   | 14,29 |
| <b>Distribuição infiltrado</b> | Focal                          | 1          | 14,29 | 0                   | 0     |
|                                | Difuso                         | 6          | 85,71 | 7                   | 100   |
| <b>Intensidade infiltrado</b>  | Leve                           | 2          | 28,57 | 2                   | 28,57 |
|                                | Intermediário                  | 2          | 28,57 | 4                   | 57,14 |
|                                | Forte                          | 3          | 42,86 | 1                   | 14,29 |
| <b>Orto/paraceratina</b>       | Ortoceratina                   | 3          | 42,86 | 2                   | 28,57 |
|                                | Paraceratina                   | 3          | 42,86 | 1                   | 14,29 |
|                                | Orto e paraceratina            | 1          | 14,29 | 4                   | 57,14 |
| <b>Imunomarcção</b>            | Focal                          | 2          | 28,57 | 1                   | 14,29 |
|                                | Difusa                         | 5          | 71,43 | 6                   | 85,71 |
|                                | Fraca                          | 2          | 28,57 | 1                   | 14,29 |
|                                | Moderada                       | 4          | 57,14 | 5                   | 71,43 |
|                                | Forte                          | 1          | 14,29 | 1                   | 14,29 |
|                                | Citoplasmática                 | 6          | 85,71 | 4                   | 57,14 |
|                                | Cito e membranas               | 1          | 14,29 | 3                   | 42,86 |
| <b>Camada marcada</b>          | Superficial e espinhosa        | 4          | 57,14 | 1                   | 14,29 |
|                                | Basal, superficial e espinhosa | 3          | 42,86 | 4                   | 57,14 |
|                                | Basal e espinhosa              | 0          | 0     | 1                   | 14,29 |

## 6 DISCUSSÃO

Desde que foi descrita pela primeira vez em um trabalho realizado por Hansen *et al.* (1985), a LVP tem sido muito estudada e critérios para classificá-la vêm sendo propostos. Neste estudo, nos propusemos a estudar e utilizar os critérios propostos por Cerero-Lapiedra *et al.* (2010) e Villa e *et al.* (2018). De uma amostra inicial de 97 casos de LO, classificamos 18 como LVP, sendo todas enquadradas nos critérios propostos por Cerero-Lapiedra *et al.* (2010) e 8 enquadradas simultaneamente nos critérios propostos por Villa *et al.* (2018). Encontramos limitações e dificuldade para realizar essas classificações, uma vez que, para se enquadrar nessas classificações, principalmente na proposta por Villa *et al.* (2018), é necessário dados de acompanhamento do paciente, o que não estava relatado em uma grande parte dos prontuários de leucoplasia oral, já que muitos desses pacientes não voltam para revisão ou os prontuários não são preenchidos da forma correta, pois as biópsias realizadas fora da UFES possuem apenas a requisição de exame histopatológico. Diante disso, há uma dificuldade de recuperação dos dados. Villa *et al.* (2018) propõem ainda que sejam feitos registros fotográficos desses pacientes a cada consulta de acompanhamento (CERERO-LAPIEDRA *et al.*, 2010 e VILLA *et al.*, 2018), como é feito de rotina nos pacientes atendidos na Clínica de Estomatologia e projetos de extensão da UFES.

Ao estudarmos o tempo de evolução da doença e o tempo de acompanhamento dos pacientes, observamos que em apenas dois casos houve transformação maligna. Isto pode estar relacionado com o pouco tempo de acompanhamento desses pacientes e/ou com a falta de acompanhamento em longo prazo da maioria dos pacientes de leucoplasias em geral, o que é essencial para classificar as LVP ou verificar a transformação maligna dessas lesões. Para alguns autores um dos critérios para classificação da LVP é o tempo de acompanhamento de cinco anos ou mais (CERERO-LAPIEDRA *et al.*, 2010; CARRARD *et al.*, 2013), e isto não foi observado na maioria dos nossos casos. O tempo médio de evolução da doença nas leucoplasias foi de 10,5 meses e tempo de acompanhamento de 21,5 meses. Já o tempo de evolução da doença para as LVP-Cerero foi de 41,29 meses e o tempo de acompanhamento desses pacientes foi de 24,59 meses, enquanto que nas LVP-VILLA, o tempo de evolução da doença foi de 54,80 meses e o tempo de acompanhamento desses pacientes foi de 24,75 meses. Observa-se que o tempo de

evolução das LVP é maior do que nas leucoplasias, o que pode ser explicado pelo seu comportamento proliferativo, sua alta taxa de recidiva ou porque o paciente demora para procurar ajuda (CAPELLA *et al.*, 2017; STAINES; ROGERS, 2017).

Alguns autores relatam que a LVP, após um longo período, aproximadamente seis anos, evolui para o carcinoma (GHAZALI *et al.*, 2003; BAGAN *et al.*, 2003; BISHEN; SETHI, 2009; GANDOLFO *et al.*, 2009; GOUVÊA *et al.*, 2013). Outros autores relatam que, aproximadamente 5% das leucoplasias orais vão se transformar em câncer em um período médio de cinco anos, já as LVP tem uma taxa de transformação maligna em torno de 70 a 100% ao longo de um período prolongado de acompanhamento (BISHEN; SETHI, 2009; GOUVÊA *et al.*, 2013; CAPELLA *et al.*, 2017; BARNES *et al.*, 2005). De forma geral foi observado que as lesões LVP-Villa foram maiores em tamanho médio do que as LVP-Cerero e idade do paciente um pouco mais baixa. Além disso, o tempo de evolução relatado pelo paciente foi maior do que pra Cerero, sugerindo assim um diagnóstico talvez mais tardio, porém mais preciso dessa classificação, bem como gravidade maior (tamanho maior, lesões presentes em idade mais precoce) das lesões assim classificadas. É necessário continuar acompanhando esse grupo de pacientes, para detectar os casos de progressão clara da doença, bem como aqueles com transformação para carcinoma de boca.

A LVP vem sendo descrita por vários autores como uma lesão progressiva que evolui a partir da leucoplasia oral, multifocal, com alto risco de malignização, resistente ao tratamento, de recorrência frequente (HANSEN *et al.*, 1985; CAPELLA *et al.*, 2017; STAINES; ROGERS, 2017), com predileção pelo sexo feminino, em uma proporção de 4:1 e com uma média de idade ao acometimento de 62 anos (SILVERMAN; GORSKY, 1997). Este estudo corrobora com os achados de Silverman e Gorsky, onde encontramos que os pacientes diagnosticados com LVP (segundo classificação de Cerero-Lapiedra *et al.*, 2010) tiveram predileção pelo gênero feminino (5:1), com uma idade média de 61,22 anos. Já LVP-Villa apresentou uma idade média mais baixa, de 57,75 anos, preferência pelo gênero feminino, porém numa proporção menor (3:1) do que na LVP-Cerero, em que ser do sexo feminino é um dos critérios de inclusão. Em relação à leucoplasia oral, este estudo encontrou predominância do gênero feminino (53,16%) em relação ao gênero masculino (46,84%), com uma média de idade de 55,66 anos, resultados esses diferentes dos relatados na literatura, onde a mesma é

mais comum em homens, exceto em algumas regiões onde a população tem hábitos de mascar tabaco (STAINES; ROGERS, 2017; PETTI, 2003; NEVILLE *et al.*, 2016).

Alguns autores relatam que a etiologia da LVP parece não estar relacionada ao uso do tabaco (GANDOLFO *et al.*, 2009; BAGAN *et al.*, 2011), de forma que Cerero-Lapiedra e colaboradores (2010) usaram como um dos itens do seu critério de classificação para LVP, porém na classificação proposta recentemente por Villa e colaboradores (2018), está variável não entra como critério, uma vez que, a LVP pode atingir tanto pacientes fumantes como não fumantes, não sendo este um critério de inclusão ou exclusão (CERERO-LAPIEDRA *et al.*, 2010; VILLA *et al.*, 2018). Neste estudo, observamos que houve uma tendência a associação dos pacientes com LVP-Cerero, quando comparados com a leucoplasia, de não fazer uso de tabaco ( $p=0,067$ ). Em contrapartida, a prevalência do uso de tabaco nos pacientes com leucoplasia oral foi maior do que os não fumantes ou ex-fumantes (Tabela 5). Quando avaliamos a LVP-Villa, observamos que o número de pacientes que faziam uso de tabaco era igual aos que não faziam uso. Com base nisso, podemos sugerir que o critério de Cerero-Lapiedra talvez esteja selecionando mais mulheres e não-tabagistas (viés de seleção).

As lesões de leucoplasia oral ou LVP podem se apresentar inicialmente unifocais, como uma discreta leucoplasia homogênea, ou se apresentarem multifocais com características exofíticas no momento do diagnóstico inicial (CAPELLA *et al.*, 2017; BISHEN; SETHI, 2009). Neste estudo, foi significativa a associação entre LVP e lesões multifocais, tanto quando comparamos as leucoplasias com LVP-Cerero ( $p=0,08$ ), quanto quando comparamos as leucoplasias com LVP-Villa ( $p=0,016$ ). Provavelmente porque ambas as classificações para LVP levam o critério multifocalidade em consideração. Observamos também, que a maioria dos pacientes apresentavam lesões em forma de placas brancas com superfície irregular, rugosa ou verrucosa, tanto nas lesões de leucoplasia como nas LVP (LVP-Cerero 70,37% e LVP-Villa 65,38%) (Tabela 7).

A leucoplasia e a LVP podem acometer vários locais da mucosa oral, sendo a gengiva o local mais descrito por diversos autores (CAPELLA *et al.*, 2017; GANDOLFO *et al.*, 2009; BISHEN; SETHI, 2009; HANSEN *et al.*, 1985; CERERO-LAPIEDRA *et al.*, 2010; FETTIG *et al.*, 2000). No presente estudo as leucoplasias foram mais prevalentes na mucosa jugal e rebordo gengival, enquanto que as LVP-Cerero foram mais comuns em língua e mucosa jugal (Tabela 2). Também

observamos, neste estudo, associação da leucoplasia com a mucosa jugal, bem como da LVP com a língua ( $p=0,015$ ), diferindo da maioria dos estudos. Como a leucoplasia oral se caracteriza por ser uma lesão cujo diagnóstico se faz por exclusão, lembramos da necessidade de excluir o trauma e as lesões de ceratose traumática principalmente quando se analisa placas brancas em mucosa jugal e rebordo gengival, que são regiões da mucosa de revestimento da boca constantemente submetidas à trauma.

Em relação ao tamanho das lesões, houve associação da leucoplasia com lesões de menos de 2 cm, tanto na comparação com LVP-Cerero ( $p=0,041$ ), quanto com LVP-Villa ( $p=0,035$ ), sendo que houve um aumento na proporção de lesões maiores nas LVP (Tabela 7). De acordo com alguns autores, uma leucoplasia tem risco aumentado para transformação maligna quando as lesões apresentam uma média de tamanho superior a 200 mm<sup>2</sup>, estando associadas a graus mais elevados de displasia (WARNAKULASURIYA *et al.*, 2016; HOLMSTRUP *et al.*, 2006). Isto pode explicar o porquê de praticamente não termos casos de transformação maligna, uma vez que, a maioria das lesões eram pequenas e com grau de displasia moderado, além de que o tempo médio de acompanhamento foi cerca de 24 meses.

Alguns estudos mostram que as alterações da DEO não são observadas nas fases iniciais da LVP, o que faz com que a maioria dos casos deixem de ser vistos com potencial de malignidade (VAN DER WAAL, REICHART, 2008; ZAKRZEWSKA *et al.*, 1996). Neste estudo não encontramos associação significativa entre os graus da DEO com as LVP, o que pode ser explicado pela falta de acompanhamento do paciente a longo prazo, bem como da realização de novas biópsias. Contudo, chama atenção que todos os casos de LVP apresentavam algum grau de displasia e que a proporção de displasia moderada e severa foi maior nas LVP do que nas leucoplasias.

Ao analisar comparativamente os dados histopatológicos em relação ao diagnóstico de LVP ou leucoplasia, considerando-se todas as lâminas analisadas, foi observada associação significativa da presença de ortoceratina, associada ou não à paraceratina, com o diagnóstico de LVP-Villa ( $p=0,004$ ). Houve também associação da presença da camada granulosa com LVP-Villa ( $p=0,003$ ). Kobayashi *et al.* (2012) criaram o termo displasia ortoceratótica, que seria um tipo de displasia presente nas DOPM, não necessariamente associada a alterações citológicas e arquiteturais do epitélio. As lesões seriam assim denominadas quando houvesse a presença de camada granulosa e ortoceratina simultaneamente, podendo indicar alterações

histopatológicas iniciais resultantes de mutação celular. Dessa forma, a associação entre presença de ortoceratina e camada granulosa com LVP-Villa pode ser relacionada à displasia ortoceratótica (KOBAYASHI *et al.*, 2012).

Quando se observou a degeneração da camada basal, houve associação da ausência de degeneração da basal com o diagnóstico de leucoplasia, quando comparado à LVP-Cerero ( $p=0,039$ ). Quanto à distribuição do infiltrado inflamatório, tanto as lâminas de LVP-Cerero quanto de LVP-Villa, estavam associadas à distribuição difusa ( $p=0,004$  e  $p=0,003$ , respectivamente) em relação à focal, sendo que a leucoplasia não demonstrou tal associação. Em relação a intensidade do infiltrado, as lâminas de LVP-Villa mostraram associação com a intensidade intermediária, enquanto que as lâminas de leucoplasia oral, mostraram associação com a intensidade leve ( $p=0,041$ ). Pode ser que quando as lesões apresentam mais chance de transformação maligna, como ocorre com a LVP em comparação com a leucoplasia, o infiltrado se torna mais difuso e forte, na tentativa de responder às alterações do epitélio e do estroma, o que justifica o papel da inflamação na Tumorigênese (GRIVENNIKOV; GRETEN; KARIN, 2010; KARIN, 2006). Outro estudo observou que as alterações vasculares e inflamatórias estavam ligadas ao desenvolvimento de displasia e invasão de células epiteliais em lesões pré-malignas e malignas ao se avaliar LO com displasia leve à CCE. Eles concluíram que a intensidade de infiltração de células inflamatórias no tecido conjuntivo subjacente foi maior nas LO com displasia grave, nos carcinomas in situ e nos CCE, sendo que, neste último, a intensidade foi ainda maior (MASHHDIABBAS; FAYAZI-BOROUJENI, 2017). Além disso, a associação significativa da degeneração da camada basal e do infiltrado difuso – duas características presentes no líquen plano oral – podem justificar o aspecto inicial da LVP semelhante ao líquen plano oral, tanto na apresentação clínica quanto na histopatológica, conforme descrito anteriormente (LOPES *et al.*, 2015). Também foram observados no presente estudo aumento na proporção de corpos apoptóticos e de infiltrado inflamatório forte nas LVP (Tabela 3), mais duas características observadas em lesões de líquen plano. Apesar dessas características que se assemelham ao líquen plano, que é umas das DOPM com menores índices de transformação maligna, houve aumento na proporção de displasia moderada e severa nas LVP quando comparadas à leucoplasia. Alguns autores (VAN DER MEIJ *et al.*, 2003) defendem que aqueles casos de líquen com displasia epitelial não deveriam ser

classificados como líquen plano, e sim como lesão liquenoide, que apresentariam, essas sim, maior chance de transformação maligna. Na dissertação que comparou lesão liquenoide, líquen plano e LVP (MAIA, 2019), os autores defenderam que apenas os casos com displasia moderada ou severa devem ser considerados como lesão liquenoide, uma vez que alterações citológicas decorrentes da inflamação intensa presente no líquen podem induzir ao diagnóstico de displasia leve. Outro estudo compara LPO, lesão liquenóide oral e displasia liquenóide oral e mostra que quando se compara a displasia liquenóide oral com outras condições liquenóides bucais, aquelas apresentam um risco particularmente alto de transformação maligna e devem ser acompanhadas com base na presença de displasia e não no infiltrado inflamatório liquenóide. Já o LPO demonstra uma taxa relativamente baixa de transformação maligna. (SHEARSTON et al., 2019).

Neste estudo observou-se intensidade de marcação fraca em 4 (16,67%) amostras, 17 (70,83%) moderada e 3 (12,5%) forte e a imunomarcação positiva na camada basal em 1 (4,17%) lâmina, na camada basal e camada espinhosa simultaneamente em 4 (16,67%), na camada espinhosa e camada superficial simultaneamente em 8 (33,33%) e em todas as camadas simultaneamente em 11 (45,83%) lâminas (Tabela 4), o que mostra que a marcação basal isoladamente ou em associação com outras foi predominante, ao mesmo tempo que a marcação de todas as camadas também sobressai, indicando presença marcante da CK19 nesses casos. Estes achados corroboram com o estudo realizado por Bombeccari *et al.* (2018), que mostrou que das amostras positivas para LPO, 6/18 (33%) foram classificadas na categoria 2 (poucas células coradas), com a coloração de CK19 confinada à camada celular basal do epitélio oral. Porém, nas amostras de CCEO (10/18), 5/10 (50%) foram categorizadas no grau 2 e 5/10 (50%) no grau 3 (menos de 50% das células coradas), com CK19 expressa na camada parabasal e focal no epitélio superficial (BOMBECCARI, SPADARI, 2018) e esses achados são coerentes com um estudo anterior de Safadi *et al.* (2010) que relata uma porcentagem geral de 66,7% das seções coradas (SAFADI *et al.*, 2010). Vander Velden *et al.* (1999), explicou a expressão da CK19 no epitélio simples não ceratinizado, onde foi expressa de forma heterogênea nas camadas celulares basais e esparsa nas camadas celulares suprabasais. Além disso, nas lesões hiperplásicas e hiperkeratóticas, a CK19 estava ausente, exceto nas lesões que apresentavam inflamação (VAN DER

VELDEN *et al.*, 1999). Segundo Lindberg e Rheinwald (1989), a expressão suprabasal de CK19 está correlacionada com instabilidade da mucosa e alterações que precedem as lesões maligna (LINDBERG; RHEINWALD, 1989). No entanto, padrões variáveis de expressão suprabasal de CK19 também podem ser encontrados no epitélio oral normal e no epitélio da laringe (VAN DER VELDEN *et al.*, 1999). Foi observado também maior média da imunomarcção na LVP-Villa do que na LVP-Cerero, o que poderia corroborar com os critérios anteriores descritos como indicativos de maior gravidade das lesões em LVP-Villa (maior tamanho, diagnóstico em idade média menor e maior marcação para CK19).

Santoro *et al.* (2015), avaliaram CCE e sua relação com HPV e mediram a variação da expressão de CK19 nas linhagens celulares UPCI-SCC 131 (HPV-; n=28) e UPCI-SCC-154 (HPV+; n=10) por imunocitoquímica e citometria de fluxo. As duas linhagens celulares foram ambas positivas para o anticorpo CK19, mas mostraram um nível de expressão diferente; em particular, deve-se notar que a linhagem celular UPCI-SCC-154 apresentava um nível de expressão mais alto, caracterizado por forte intensidade e padrão difuso; por outro lado, a linhagem celular UPCI-SCC-131 mostrou um nível de expressão mais baixo, com intensidade moderadamente forte e focalmente forte da coloração. Neste estudo, 17 (70,83%) lâminas apresentaram marcação difusa e 7 (29,17%) apresentaram marcação focal (SANTORO *et al.*, 2015).

## 7 CONCLUSÕES

Os critérios diagnósticos desenvolvidos por Cerero-Lapiedra *et al.*, 2010 e por Villa *et al.*, 2018 foram uma ferramenta útil para o diagnóstico da LVP, sendo o proposto por Villa *et al.*, 2018 o mais seletivo deles, já que necessariamente requer acompanhamento dos pacientes.

A LVP não é um subtipo comum de leucoplasia oral, estando presente em até 18,56% dos casos, e apresenta um perfil diferente desta, sendo predominante em mulheres e não fumantes, quando seguimos os critérios propostos por Cerero-Lapiedra e colaboradores (2010) e sendo predominante em mulheres, independente do uso do tabaco, quando seguimos os critérios propostos por Villa e colaboradores (2018).

A presença de orto e paraceratina, simultaneamente, presença da camada granulosa, cristas epiteliais hiperplásicas e em forma de gota, degeneração da camada basal, distribuição difusa do infiltrado inflamatório, intensidade leve e intermediária do infiltrado inflamatório, assim como a presença de displasia epitelial em todas as LVP foram características histopatológicas marcantes.

A imunomarcação da CK19 nas LVP foi predominantemente citoplasmática, a marcação difusa, de intensidade moderada, marcando todas as camadas epiteliais simultaneamente. A média da imunomarcação foi maior para LVP-Villa do que para LVP-Cerero.

Houve associação da LVP-Cerero, quando comparada à leucoplasia, com sexo feminino, tempo de evolução e de acompanhamento maiores, multifocalidade, localização em língua e lesões de tamanho menor, bem como com a degeneração da camada basal e distribuição difusa do infiltrado inflamatório. Já para LVP-Villa observou-se associação com tempo de evolução menor, localização em mucosa jugal, multifocalidade, presença de ortoceratina associada ou não à paraceratina, aquisição da camada granulosa, distribuição difusa e intensidade intermediária do infiltrado inflamatório.

O diagnóstico precoce da LVP é importante para alertar para uma possível transformação maligna, e para isto, é necessário que o cirurgião-dentista esteja atento para diagnosticar e acompanhar a evolução dessas lesões verrucosas orais, pois

podem ser inicialmente indistinguíveis de uma leucoplasia homogênea ou líquen plano. Embora sejam benignas, podem, com o tempo, progredir para uma neoplasia maligna com frequência maior do que a leucoplasia oral.

## REFERÊNCIAS

- AKRISH, S.; BEN-IZHAK, O.; SABO, E.; RACHMIEL, A. Oral squamous cell carcinoma associated with proliferative verrucous leukoplakia compared with conventional squamous cell carcinoma--a clinical, histologic and immunohistochemical study. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology**, v. 119, n. 3, p. 318-25, mar. 2015.
- BARNES, L.; EVESON, J. W.; REICHART, P.; SIDRANSKY, D. **Pathology & genetics head and neck tumours. World Health Organ Classif Tumours**. 2005.
- BAGAN, J. V.; JIMENEZ, Y.; SANCHIS, J. M.; POVEDA, R.; MILIAN, M. A.; MURILLO, J.; SCULLY, C. Proliferative verrucous leukoplakia: high incidence of gingival squamous cell carcinoma. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 32, n. 7, p. 379-82, ago. 2003.
- BAGAN, J.; JIMÉNEZ, Y.; MURILLO, J.; POVEDA, R.; DÍAZ, J. M.; GAVALDÁ, C.; et al. Epstein-Barr virus in oral proliferative verrucous leuko-plakia and squamous cell carcinoma: a preliminary study. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirurgia Bucal**, v.13, p.110-3, 2008.
- BAGAN et al. Malignant transformation of proliferative verrucous leukoplakia to oral squamous cell carcinoma: A series of 55 cases. **Oral Oncology**, v. 47, n. 8, p. 732-735, ago. 2011.
- BOMBECCARI, G. P.; GIANNI, A. B.; SPADARI, F. Immunoexpression of cytokeratin-19 in the oral lichen planus and related oral squamous cell carcinoma. **Annali Di Stomatologia**, v. 8, n. 3, p. 104-109, 2017.
- BISHEN, K. A.; SETHI, A. Proliferative Verrucous Leukoplakia – diagnostic pitfalls and suggestions. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirurgia Bucal**, v. 14, n. 6, p. 263-4, 2009.
- CAPELLA, D. L.; GONÇALVES, J. M.; ABRANTES, A. A.; GRANDO, L. J.; DANIEL, F. I. Proliferative verrucous leukoplakia: diagnosis, management and current advances. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 83, n. 5, p. 585-593, set./out. 2017.
- CARRARD, V. C.; BROUNS, E. R. E. A.; VAN DER WAAL, I. Proliferative verrucous leukoplakia; a critical appraisal of the diagnostic criteria. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirurgia Bucal**, v. 18, n. 3, p. 411-3, maio 2013.
- CERERO-LAPIEDRA, R.; BALADÉ-MARTÍNEZ, D.; MORENO-LÓPEZ, L. A.; ESPARZA-GÓMEZ, G.; BAGÁN, J. V. Proliferative verrucous leukoplakia: a proposal for diagnostic criteria. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirurgia Bucal**, v. 15, n. 6, p. 839-45, 2010.
- EL-NAGGAR, A. K. *et al.* 4<sup>th</sup> Edition **World health organization classification of tumours. Pathology and genetics of head and neck tumours**. Lyon: IARC Press, 2017.
- FETTIG A, POGREL MA, SILVERMAN JR S, BRAMANTI TE, DA COSTA M, REGEZI

JA. Proliferative verrucous leukoplakia of the gingiva. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontic**, v. 90, p. 723-730, 2000.

GHAZALI, N.; BAKRI, M. M.; ZAIN, R.B. Aggressive, multifocal oral verrucous leukoplakia: proliferative verrucous leukoplakia or not. **Journal Oral Pathology of Medicine**, v. 32, n. 7, p. 383-392, 2003.

GANDOLFO, S.; CASTELLANI, R.; PENTENERO, M. Proliferative Verrucous Leukoplakia: A Potentially Malignant Disorder Involving Periodontal Sites. **Journal of Periodontology**, v.80, n. 2, p. 274-281, 2009.

GOODSON, M. L.; SLOAN, P.; ROBINSON, C. M.; COCKS, K.; THOMSON, P. J. Oral precursor lesions and malignant transformation--who, where, what, and when? **The British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 53, n. 9, p. 831-5, nov. 2015.

GOUVÊA *et al.* High incidence of DNA ploidy abnormalities and increased Mcm2 expression may predict malignant change in oral proliferative verrucous leukoplakia. **Histopathology**, v. 62, p. 551-562, 2013.

GRIVENNIKOV, S.; GRETEN, F. R.; KARIN, M. Immunity, Inflammation, and Cancer. **Cell**, v.140, n. 6, p. 883-889, 2010.

HANSEN, L. S.; OLSON, J. A.; SILVERMAN JR, S. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**. v. 60, p. 285-298, 1985.

HO *et al.* Outcomes of oral squamous cell carcinoma arising from oral epithelial dysplasia: rationale for monitoring premalignant oral lesions in a multidisciplinary clinic. **The British Journal of Oral Maxillofacial Surgery**, v. 51, n. 7, p. 594-9, out. 2013.

HOLMSTRUP, P.; VEDTOFTE, P.; REIBEL, J.; STOLTZE, K. Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. **Oral Oncology**, v. 42, n. 5, p. 461-74, maio 2006.

KARIN, M. Fator nuclear-kappaB no desenvolvimento e progressão do câncer. **Nature**, v. 441, p. 431 – 436, 2006.

KELLOKOSKI, J.; SYRJÄNEN, S.; TOSI, P.; CINTORINO, M.; LEONCINI, P.; SYRJÄNEN, K. Cytokeratin pattern in normal and HPV infected oral mucosa in women with genital HPV infections. **Journal of Oral Pathology Medicine**, v. 20, n. 1, p. 26-31, 1991.

KOBAYASHI *et al.* Histopathological varieties of oral carcinoma *in situ*: Diagnosis aided by immunohistochemistry dealing with the second basal cell layer as the proliferating center of oral mucosal epithelia. **Pathology International**, v. 60, n. 3, p. 156-166, mar. 2010.

KOBAYASHI *et al.* Keratin 10-positive orthokeratotic dysplasia: a new leukoplakia-type precancerous entity of the oral mucosa. **Histopathology**, v. 61, n. 5, p. 910-920, nov. 2012.

LINDBERG, K.; RHEINWALD, J. G. Suprabasal 40 kd keratin (K19) expression as an immunohistologic marker of premalignancy in oral epithelium. **The American Journal of Pathology**, v. 134, n. 1, p. 89-98, 1989.

LOPES, M. A.; FEIO, P.; SANTOS-SILVA, A. R.; VARGAS, P. A. Proliferative verrucous leukoplakia may initially mimic lichenoid reactions. **World Journal of clinical cases**, v.3, n.10, p. 861-863, out. 2015.

MAIA, Fernanda Doyle Miguel. **Crêterios para classifica o e análise clínico-patológica comparativa entre líquen plano oral, lesões de aspecto liquenoide e leucoplasia verrucosa proliferativa em cavidade oral**. 2019. Disserta o (Mestrado em Clínica Odontológica) – Programa de Pós-Gradua o em Clínica Odontológica, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2019.

MASHHDIABBAS, F.; FAYAZI-BOROUJENI, M. Correlation of Vascularization and Inflammation with Severity of Oral Leukoplakia. **Iranian Journal of Pathology**, v. 12, n. 3, p. 225-230, 2017.

NEVILLE, B. W. et al. Tradu o 3<sup>a</sup> Edi o. **Patologia Oral e Maxilofacial**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

NEVILLE, B. W. et al. Tradu o 4<sup>a</sup> Edi o. **Patologia Oral e Maxilofacial**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

NIE, M.; ZHONG, L.; ZENG, G.; LI, B. The changes of cytokeratin 19 during oral carcinogenesis. **Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zh**, v. 37, n. 3, p. 187-190, 2002.

SAHA, S. K.; KIM, K.; YANG, G. M.; CHOI, H. Y.; CHO, S. G. Cytokeratin 19 (*KRT19*) has a Role in the Reprogramming of Cancer Stem Cell-Like Cells to Less Aggressive and More Drug-Sensitive Cells. **International Journal of Molecular Sciencis**, v. 19, n. 5, p; E1423, maio 2018.

SAFADI, R. A.; MUSLEH, A. S.; AL-KHATEEB, T. H.; HAMASHA, A. A. Analysis of immunohistochemical expression of k19 in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma using color deconvolution-image analysis method. **Head and Neck Pathology**, v. 4, n. 4, p. 282-289, 2010.

SANTORO, A. et al. Relationship between CK19 expression, deregulation of normal keratinocyte differentiation pattern and high risk-human papilloma virus infection in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. **Infectious Agents and Cancer**, v. 10, n. 46, p. 1-13, 2015.

SCHULZ, J.; ERMICH, T.; KASPER, M.; RAABE, G.; SCHUMANN, D. Cytokeratin pattern of clinically intact and pathologically changed oral mucosa. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 21, n. 1, p. 35-39, 1992.

SILVERMAN, S.; GORSKY, M. Proliferative verrucous leukoplakia: a follow-up study of 54 cases. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontic**, v. 84, p. 154-7, 1997.

STAINES, K.; ROGERS, H. Oral leukoplakia and proliferative verrucous leukoplakia: a review for dental practitioners. **British Dental Journal**, v. 223, n. 9, p. 655-661, dez. 2017.

PETTI, S. Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review. **Oral Oncology**, v. 39, n. 8, p. 770-80, dez. 2003.

TROY, T. C.; ARABZADEH, A.; TURKSEN, K. Re-assessing K15 as an epidermal stem cell marker. **Stem Cell Reviews and Report**, v. 7, n. 4, p.927-34, nov. 2011.

VAN DER MEIJ, E. H; VAN DER WAAL, I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications. **Journal of Oral Pathology Medicine**, v. 32, n. 9, p. 507-512, fev. 2003.

VAN DER MEIJ E. H.; MAST, H.; VAN DER WAAL, I. The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: A prospective five-year follow- up study of 192 patients. **Oral Oncology**, v. 43, n. 8, p. 742-748, set. 2007.

VAN DER WAAL, I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. **Oral Oncology**, v. 45, n. 4-5, p. 317-23, 2009.

VAN DER WAAL, I.; REICHART, P. A. Oral proliferative verrucous leukoplakia revisited. **Oral Oncology**, v. 44, n. 8, p. 719-721, 2008.

WARNAKULASURIYA, S.; ARIYAWARDANA, A. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies. **Journal of Oral Pathology Medicine**, v. 45, n. 3, p. 155-66, mar. 2016.

WARNAKULASURIYA, S.; JOHNSON, N. W.; VAN DER WAAL, I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 36, n. 10, p. 575–580, 2007.

ZAKRZEWSKA, J. M.; LOPES, V.; SPEIGHT, P.; HOPPER, C. Proliferative verrucous leukoplakia: a report of ten cases. **Oral Oncology**, v. 82, n. 4, p. 396-401, 1996.

## ANEXO A

UFES - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO CASSIANO  
ANTÔNIO DE MORAES DA



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

## DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Análise de diferentes sistemas de classificação da displasia epitelial oral e da expressão da citoqueratina-10 em desordens com potencial de malignização e epitélio adjacente a tumores da cavidade oral

**Pesquisador:** Danielle Resende Camisasca Barroso

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 62902316.1.0000.5071

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.149.428

## Apresentação do Projeto:

Análise de diferentes sistemas de classificação da displasia epitelial oral e da expressão da citoqueratina-10 em desordens com potencial de malignização e epitélio adjacente a tumores da cavidade oral. Justificativa da Emenda: O presente trabalho utilizará praticamente a mesma população de estudo do anterior, sendo acrescentados

os carcinomas de células escamosas de boca (peça cirúrgica) para avaliação do epitélio adjacente, bem como refinada a amostra composta por leucoplasias. Contudo, serão avaliados mais dois tipos de classificação de displasia epitelial oral.

## Objetivo da Pesquisa:

Classificar as lesões levantadas como líquen plano oral ou lesão líquenóide, de acordo com os critérios clínicos e histopatológicos. Levantar os casos classificados como leucoplasia e que possuam mais de uma biópsia e selecionar aqueles que se encaixem na classificação de leucoplasia verrucosa proliferativa. Levantar os casos classificados como carcinoma de células escamosas bem diferenciado no Serviço de

Anatomia Patológica Bucal da UFES. Comparar os dados sócio-demográficos e clínico-patológicos entre LPO e LLO, bem como com as reações líquenóides, leucoplasias verrucosas proliferativas e os carcinomas de células escamosas de boca bem diferenciados. Realizar a técnica de

Endereço: Avenida Marechal Campos, 1366

Bairro: Santos Dumont

CEP: 29.043-900

UF: ES

Município: VITÓRIA

Telefone: (27)3335-7326

E-mail: cep@ufes.br

**UFES - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO CASSIANO  
ANTÔNIO DE MORAES DA**



Continuação do Parecer: 2.148.408

Imunohistoquímica para a citoqueratina 10 em todas as lesões estudadas. Comparar a marcação para a citoqueratina 10 nas lesões estudadas. Observar se as características do LPO se assemelham mais às da reação liquenóide, enquanto que as características da LLO se assemelham mais à leucoplasia verrucosa proliferativa e/ou ao carcinoma. Justificativa da Emenda: O presente trabalho utilizará praticamente a mesma população de estudo do anterior, sendo acrescentados

os carcinomas de células escamosas de boca (peça cirúrgica) para avaliação do epitélio adjacente, bem como refinada a amostra composta por leucoplasias. Contudo, serão avaliados mais dois tipos de classificação de displasia epitelial oral.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Trata-se de um estudo que não envolve intervenção sem risco aos indivíduos estudados. Os benefícios decorrem da melhor compreensão da patologia estudada.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um estudo relevante, que foi elaborado atendendo plenamente a critérios de consistência ética e científica.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Estão presentes e adequadamente redigidos

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sou de parecer favorável a emenda apresentada

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento                            | Arquivo                                    | Postagem               | Autor                                 | Situação |
|---|--|------------------------|---------------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_925180_E1.pdf       | 21/05/2017<br>08:57:35 |                                       | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projeto_displasias.pdf                     | 19/05/2017<br>19:26:19 | Danielle Resende<br>Camisasca Barroso | Aceito   |
| Outros                                    | PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_1871236.pdf | 19/05/2017<br>19:25:27 | Danielle Resende<br>Camisasca Barroso | Aceito   |
| Outros                                    | CEP_318_2011.pdf                           | 19/05/2017<br>19:24:45 | Danielle Resende<br>Camisasca Barroso | Aceito   |
| TGLE / Termos de Assentimento /           | TSC_Jamille.pdf                            | 19/05/2017<br>19:22:44 | Danielle Resende<br>Camisasca Barroso | Aceito   |

Endereço: Avenida Marechal Campos, 1566

Bairro: Santos Dumont

CEP: 29.043-900

UF: ES Município: VITÓRIA

Telefone: (27)3328-7328

E-mail: cepucam@gmail.com

UFES - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO CASSIANO  
ANTÔNIO DE MORAES DA



Continuação do Parecer: 2.149.426

|                           |                 |                        |                                       |        |
|---------------------------|-----------------|------------------------|---------------------------------------|--------|
| Justificativa de Ausência | TSC_Jamille.pdf | 19/05/2017<br>19:22:44 | Danielle Resende<br>Camisasca Barroso | Aceito |
| Folha de Rosto            | FR_Jamille.pdf  | 19/05/2017<br>19:14:55 | Danielle Resende<br>Camisasca Barroso | Aceito |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

VITÓRIA, 30 de Junho de 2017

---

Assinado por:  
Claudio Piras  
(Coordenador)

Endereço: Avenida Marechal Campos, 1365  
Bairro: Santa Dumont  
UF: ES Município: VITÓRIA  
Telefone: (27)3335-7325

CEP: 29.043-900

E-mail: cepucam@gmail.com