



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



DARCY FERNANDES

**LEUCOPLASIA ORAL E LEUCOPLASIA VERRUCOSA
PROLIFERATIVA: UM ESTUDO CLÍNICO COMPARATIVO**

Araraquara

2015



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



DARCY FERNANDES

**LEUCOPLASIA ORAL E LEUCOPLASIA VERRUCOSA
PROLIFERATIVA: UM ESTUDO CLÍNICO COMPARATIVO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Área de Diagnóstico e Cirurgia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Orientadora:

Prof.^a. Dr.^a. Elaine Maria S. Massucato

Co-orientadora:

Prof.^a. Dr.^a. Andreia Bufalino

Araraquara

2015

DADOS CURRICULARES

DARCY FERNANDES

Nascimento	10 de novembro de 1989 – Araraquara – SP
Filiação	Darci Aparecido Fernandes Isabel Cristina Devito Fernandes
Formação	
2008 a 2012	Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP
2013 a 2014	Programa de Aprimoramento Profissional em Estomatologia pela PAP/FUNDAP – Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP
2013 a 2015	Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração em Diagnóstico e Cirurgia, nível Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Darci e Isabel, pelo apoio incondicional às minhas escolhas, pelo exemplo de honestidade e força, e por terem muitas vezes abdicado de seus desejos em prol de seus filhos. Agradeço também a eles e ao meu irmão Rafael pelo incentivo, a compreensão, a cooperação e o apoio durante essa etapa. Obrigado pela longa espera.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À professora Dr.^a Elaine Maria Sgavioli Massucato, por acreditar em mim e pela a liberdade e confiança referente ao presente trabalho, além da indiscutível amizade e compreensão em momentos difíceis. Também agradeço a dedicação, paciência, vontade e tempo investido na minha formação. Obrigado pela oportunidade me oferecida de trabalhar ao seu lado e compartilhar de suas experiências. Levo comigo um grande exemplo de pessoa e docente. Serei sempre muito grato.

AGRADECIMENTOS

À professora Dr.^a Andreia Bufalino, como co-orientadora, agradeço por sua ajuda nos momentos mais críticos, pela infinita disponibilidade, por acreditar no futuro deste projeto, contribuir para o meu crescimento profissional e por ser também um exemplo a ser seguido. Sua participação foi fundamental para a realização deste trabalho.

À professora Dr.^a Mirian Aparecida Onofre e a professora Dr.^a Cláudia Maria Navarro pelos ensinamentos, atenção, companheirismo e cooperação sempre que requisitadas.

Aos funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP, em especial a Rosimeire Aparecida Cincerre Pipoli, por terem compartilhado todas as etapas e as dificuldades dos momentos deste trabalho.

Aos meus colegas de pós-graduação, Túlio Morandin Ferisse, Daphine Caxias Travassos, Nayara Cristina Cavalheiro, Mayara Aparecida de Oliveira Silvestre e Camila Marques Costa pelo convívio e aprendizado.

Aos meus amigos Vinícius Krieger Costa Nogueira, Gabriel Grando Barbosa, e André Luiz Alselmi pela amizade e companheirismo. Em particular ao Renan Menezes Campos, pelo suporte mesmo nos momentos mais difíceis. Também aos meus amigos Danielle Wajngarten, André Luís dos Santos, Ana Carolina Massariolo e Jessica Hayakawa pela amizade e carinho. Vocês fizeram com que esse caminho fosse traçado de maneira mais feliz. Levarei vocês para sempre comigo.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista, representada pela digníssima Diretora Prof.^a Dr.^a Andréia Affonso Barreto Montandon.

À Coordenação da Pós-Graduação do programa Ciências Odontológicas da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Pró-Reitoria de Pós-Graduação (PROPG) pela concessão da bolsa de mestrado por período parcial.

E a todos que me incentivaram, apoiaram, ajudaram e contribuíram nessa minha etapa.

...de modo geral, não é a observação de fenômenos raros e escondidos que só são apresentáveis por meio de experimentos que serve para a descoberta das mais importantes verdades, mas a observação daqueles fenômenos que são evidentes e acessíveis a todos. Por isso a tarefa não é ver o que ninguém viu ainda, mas pensar aquilo que ninguém pensou a respeito daquilo que todo mundo vê.

(Schopenhauer¹⁷, 2010)

Fernandes D. Leucoplasia oral e leucoplasia verrucosa proliferativa: um estudo clínico comparativo [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2015

RESUMO

O carcinoma espinocelular (CEC) representa mais de 95% de todas as neoplasias malignas que acometem a cavidade oral e muitas vezes estes tumores são precedidos por alterações clínicas que apresentam um evidente potencial de transformação maligna, as quais são chamadas de distúrbios potencialmente malignos orais (DPMO). Dentre estas, a leucoplasia oral (LO) é a principal condição dentre as DPMOs com uma taxa de incidência igual a 3,4% e uma taxa de transformação maligna que varia de 0,2% até 17,5%. Uma forma menos reconhecida e ainda pouco compreendida de LO denominada leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP), representa uma variante de comportamento persistente e progressivo para malignidade, com uma taxa de transformação maligna ocorrendo em mais de 70% dos casos. O diagnóstico da LVP atualmente só é possível através da observação temporal e individual de cada paciente, com a demonstração de progressão clínica e histológica das lesões para um CEC. A dificuldade no diagnóstico precoce da LVP decorre da sobreposição de características clínicas e histopatológicas, especialmente em casos de LO multifocal convencional. Portanto, foi proposto inicialmente realizar a classificação de casos multifocais de LO encontrados no Serviço de Medicina Bucal da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, durante os anos de 1995 até 2015, segundo descrição da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2005) e critérios diagnósticos para LVP atualmente propostos por Cerero-Lapiedra (2010) e Carrard (2013). Posteriormente, foi realizada uma análise comparativa entre as características clínicas e microscópicas de casos de LVP e LO. Os resultados deste estudo revelaram que dentre 86 casos de LO, 45 casos apresentaram o envolvimento de dois ou mais sítios orais configurando estes como casos de LO multifocal. Segundo avaliação realizada por dois observadores experientes, 14/45 casos foram verdadeiramente casos de LVP. A classificação destes mesmos 45 casos segundo a descrição da OMS revelou que 21/45 casos foram LVP, segundo Cerero-Lapiedra 27/45 casos foram LVP e 4/45 casos foram LVP segundo Carrard. Sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e razão de probabilidade, revelaram que nenhum dos critérios diagnósticos atualmente propostos satisfazem totalmente as necessidades

clínicas para o diagnóstico de LVP. Adicionalmente, análise comparativa entre LO e LVP não revelou diferenças estatisticamente significantes quanto a idade, gênero, envolvimento do palato duro e mole, aspecto clínico, presença de hiperqueratose, displasia leve, displasia moderada e carcinoma de células escamosas. Contudo, diferenças estatisticamente significantes foram observadas com relação ao envolvimento da mucosa bucal, da gengiva ou processo alveolar, da língua, do assoalho bucal, o tamanho total das lesões, o espalhamento, a recorrência, taxa de malignização, a presença de acantose, infiltrado inflamatório liquenóide, displasia severa e carcinoma espinocelular. Por esses motivos, concluímos que, apesar da LVP ser uma condição distinta em relação a LO, os critérios diagnósticos baseados nas características clínicas e microscópicas não são eficazes para o diagnóstico diferencial destas condições. Interessantemente, a presença do infiltrado inflamatório liquenóide em quadros clínicos iniciais de LVP parece ser uma característica diferencial importante em relação a LO. Futuramente, estudos moleculares deste padrão microscópico podem esclarecer o papel deste processo inflamatório na etiologia da LVP.

Palavras-chave: Medicina bucal. Leucoplasia. Diagnóstico

Fernandes D. Oral leukoplakia and proliferative verrucous leukoplakia: a comparative clinical study [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2015

ABSTRACT

The squamous cell carcinoma (SCC) represent more than 95% of all the malignant neoplasia of the oral cavity and most of times these tumors are preceded by clinical conditions that have a potential for malignant transformation called oral potentially malignant disorders (OPMD). Among these, the oral leukoplakia (OL) is the most important OPMD, with an incidence rate of 3.4% and a malignant transformation from 0.2 to 17.5%. A form less recognized and poorly understood of leukoplakia is the proliferative verrucous leukoplakia (PVL) which represents a variant with a persistent and progressive to malignancy behavior, with a malignant transformation ratio up to 70% of cases. Currently, the diagnosis of PVL is only made by the temporal and individual observation of each patient, with the demonstration of clinical and histopathological progression to an SCC. The difficult to establish an early diagnosis of PVL comes from the overlap of clinical and histopathological features with conventional multifocal OL cases. Therefore, was initially proposed to perform a classification of multifocal OL cases found in the Oral Medicine Service from the Araraquara Dental School – UNESP, between 1995 and 2015, according to the WHO definition (WHO, 2005) and the current suggested diagnostic criteria for PVL by Cerero-Lapiedra (2010) and Carrard (2013). Lately, a comparative analysis was conducted between the clinical and microscopic features from cases of PVL and OL. The results of this study revealed that between 86 cases of OL, 45 presented involvement of two or more setting this as multifocal OL cases. According to the evaluation by two experts, 14/45 were considered true cases of PVL. The classification of the same 45 cases by the WHO definition revealed 21/45 cases as PVL, by the Cerero-Lapiedra 27/45 cases were PVL and 4/45 cases were PVL according to Carrard. Sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and likelihood ratio revealed that any of the diagnostic criteria current proposed totally satisfy the clinical necessities to diagnosis the PVL. In addition, the comparative analysis between OL and PVL did not revealed statistical significant differences as for age, gender, involvement of hard and soft palate, clinical aspect, presence of hyperkeratosis, mild dysplasia, moderate dysplasia and squamous cell carcinoma. Nevertheless, significant statistically differences were

observed regarding the involvement of buccal mucosa, gingiva or alveolar process, tongue, floor of the mouth, the total size of lesions, spreading, malignant transformation rate, presence of acanthosis, lichenoid inflammatory infiltrate, severe dysplasia and verrucous carcinoma. Therefore, we concluded that in spite the PVL be a distinct condition relative to OL, the diagnostic criteria based on clinical and histopathological features are not effective to de differential diagnosis of these conditions. Interestingly, the presence of lichenoid inflammatory infiltrate in early clinical phases of PVL seems to be an important differential feature relative to OL. In future, molecular studies of this microscopic pattern may clarify the role of this inflammatory process in the etiology of PVL.

Keywords: Oral Medicine. Leukoplakia. Diagnosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 PUBLICAÇÕES	18
2.1 Publicação 1	18
2.2 Publicação 2	30
3 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
ANEXO	43

1 INTRODUÇÃO

As desordens potencialmente malignas da mucosa oral (DPMOs) são apresentações clínicas que possuem maior potencial para se transformar em uma neoplasia maligna, quando comparadas com a mucosa clinicamente normal. Neste contexto, são consideradas como as principais DPMOs a leucoplasia, eritroplasias, líquen plano, queilite actínica; além de outras como a fibrose submucosa (van der Waal²⁰, 2009; van der Waal¹⁹, 2010).

A leucoplasia oral (LO) é a principal e mais comum entre as DPMOs, com uma taxa de incidência igual a 3,4% e uma taxa de transformação maligna que varia de 0,2% até 17,5% (Petti¹³, 2003; van der Waal¹⁹, 2010). A leucoplasia é definida como "placa ou mancha branca que não pode ser caracterizada clinicamente ou patologicamente como qualquer outra enfermidade" (Roosaar et al.¹⁴, 2007; Warnakulasuriya et al.²², 2007). Clinicamente, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2005, a leucoplasia pode ser subdividida em tipo homogênea (fina, branca, lisa, uniforme em cor) e tipo não homogênea (Gale et al.⁸, 2005). O tipo de não homogênea foi definida como uma lesão branca e vermelha ("eritroleucoplasia"), que pode ser plana ou de forma irregular (pontilhado) ou nodular. Recentemente, diante da subjetividade e falta de reprodutibilidade das classificações clínicas propostas, novas classificações foram propostas (Amagasa et al.¹, 2011). Leucoplasia é, portanto, um termo clínico usado temporariamente como hipótese diagnóstica que implica na exclusão de outras lesões de aspecto similar. Dentre as lesões brancas que devem entrar no diagnóstico clínico diferencial, temos a hiperqueratose friccional, queimadura por químicas, candidose hiperplásica, morsicatio buccarum, leucoplasia pilosa, dentre outras (van der Waal.²⁰, 2009).

A leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP), apesar de assemelhar-se às leucoplasias não homogêneas, é considerada por alguns autores como uma entidade distinta. As LVPs são caracterizadas por placas ou manchas brancas difusas e múltiplas, com prevalência quatro vezes maior no gênero feminino, ocorrendo frequentemente a partir da sexta década de vida, com alta taxa de recorrência e malignização, a qual pode variar de 70 a 100% (Cabay et al.⁴, 2007; Bagan et al.², 2010; Gouvea et al.¹⁰, 2010). Microscopicamente a LVP pode mostrar um espectro de alterações histopatológicas que variam de hiperqueratose sem displasia até um

carcinoma espinocelular. A LVP é descrita com uma lesão multifocal branca que se estende progressivamente para diferentes sítios da mucosa oral e possui uma aparência clínica que varia de exofítica, verrucosa até eritroplásicas (Van der Waal, Reichtart¹⁸, 2008). Silverman e Gorsky¹⁶ (1997) observaram em seu estudo que 70% dos casos de uma série de pacientes com LVP desenvolveram alterações malignas após um seguimento médio de 7,7 anos. Outro estudo realizado por Bagan e Scully³ (2008), demonstrou resultados semelhantes e mais de 50% dos pacientes com LVP que desenvolveram alguma neoplasia maligna, posteriormente desenvolveram um segundo tumor maligno em um curto período de tempo (média de 19 meses), fazendo da LVP uma das DPMOs mais importantes e com maior risco de transformação maligna. Interessantemente, estudos recentes sugerem que o perfil epidemiológico das LOs e carcinomas espinocelulares orais de cabeça e pescoço (CECs) é semelhante, sendo associado ao uso do tabaco e com maior incidência entre os homens. Em contrapartida nas LVPs isso não ocorre, demonstrando o possível padrão biológico distinto entre LOs e LVPs.

Os diferentes graus de displasias que podem ser encontrados nas DPMOs, foram categorizados pela OMS em 2005 como displasia leve, moderada e severa ou carcinoma in situ, sendo utilizados atualmente para prever o risco de transformação deste grupo de lesões (Gale et al.⁸, 2005). No entanto, não há métodos objetivos ainda disponíveis para tipificar lesões displásicas e permitir resultados consistentes e reprodutíveis (Kujan et al.¹², 2006), uma vez que nem todas as lesões orais com displasia progridem para uma neoplasia maligna. Além disso, a utilidade desta subdivisão de displasia tem sido questionada, uma vez que tem sido observada grande variabilidade inter e intra observador nas avaliações da presença/ausência e grau dessa condição (Warnakulasuriya et al.²¹, 1998). Provavelmente, o maior desafio entre os casos de DPMOs é o dilema de tentar prever quais lesões irão de fato progredir para uma neoplasia maligna, em particular o carcinoma de células escamosas oral. (Scully¹⁵, 2014). Contudo, um particular desafio tem sido encontrado para realizar um diagnóstico diferencial e rápido entre casos de LO e LVP.

A OMS define que devido à falta de critérios histológicos específicos, o diagnóstico de LVP deve ser baseado em evidências clínicas e histopatológicas de progressão combinadas (El Naggar, Reichart⁷, 2005). Adicionalmente, análises sequenciais de amostras de tecido obtidas de paciente com LVP mostram displasia progressiva e aquisição de aberrações na proteína P53. A LVP é descrita ainda com

uma condição que inicialmente desenvolve-se como uma hiperqueratose focal que progressivamente se torna uma doença multifocal com aspecto exofítico. O local mais afetado nas mulheres é a mucosa jugal e nos homens é a língua. A malignização se dá depois de um prolongado período de tempo. Os lugares mais comuns de transformação maligna são a gengiva e a língua. A LVP é caracterizada pela alta taxa de recorrência e progressão histológica (El Naggar, Reichart⁷, 2005).

Cerero-Lapiedra et al.⁶ (2010) propuseram que o diagnóstico de LVP deveria basear-se na combinação dos seguintes critérios maiores e menores (Quadro 1).

Quadro 1 - Proposta de critérios maiores e menores para o diagnóstico de LVP

	Critérios maiores		Critérios menores
A	Uma lesão de leucoplasia com mais de dois sítios orais diferentes, sendo mais frequentemente encontrado na gengiva, processo alveolar e palato.	A	Uma lesão de leucoplasia que ocupe pelo menos 3 cm quando somadas todas as áreas afetadas.
B	A existência de uma área verrucosa.	B	Que o paciente seja mulher.
C	Que a lesão tenha se espalhado ou engrossado durante o desenvolvimento da doença.	C	Que o paciente (homem ou mulher) não ser fumante.
D	Que tenha havido recorrência em uma área previamente tratada.	D	Evolução da doença maior que 5 anos.
E	Histopatologicamente, podem ser encontrados desde simples hiperqueratose epitelial a hiperplasia verrucosa, carcinoma verrucoso ou carcinoma espinocelular <i>in situ</i> , ou infiltrativo.		

(Adaptado de Cerero-Lapiedra et al.⁶, 2010).

Para a realização do diagnóstico de LVP, Cerero-Lapiedra et al.⁶ (2010) propuseram que uma das duas seguintes combinações de critérios mencionados no Quadro 1 deve ser satisfeita:

1. Três critérios maiores (sendo um deles o E), ou

2. Dois critérios maiores (sendo um deles o E) + dois critérios menores.

Alguns questionamentos têm sido feitos sobre esses critérios propostos por Cerero-Lapiedra et al.⁶ (2010). Recentemente, Carrard et al.⁵ (2013) realizaram uma avaliação crítica destes critérios e propuseram a seguinte modificação destes critérios para o diagnóstico de LVP (Quadro 2).

Quadro 2 - Critérios diagnósticos modificados para LVP; todos os quatro critérios devem ser satisfeitos

1. Leucoplasia com áreas verrucosas ou nodulares, envolvendo mais de dois subsítios orais. Os seguintes subsítios orais são reconhecidos: dorso da língua (unilateral ou bilateral), borda da língua, mucosa jugal, mucosa alveolar ou gengiva superior, mucosa alveolar ou gengiva inferior, palato duro e mole, assoalho bucal, lábio superior e inferior.
2. Quando somados todos os sítios envolvidos, o tamanho total deve ser de no mínimo 3 cm.
3. Um período bem documentado da evolução da doença de no mínimo 5 anos, sendo caracterizado pelo espalhamento, crescimento e da ocorrência de um ou mais recorrências em uma área previamente tratada.
4. A disponibilidade de pelo menos uma biópsia a fim de excluir a presença de um carcinoma verrucoso ou um carcinoma espinocelular.

(Adaptado de Carrard et al.⁵, 2013).

Desde de a primeira descrição feita por Hansen et al.¹¹ (1985) muitos casos diagnosticados como LVP foram publicados, questionando-se a etiologia, os critérios de diagnóstico e o tratamento adequado (Carrard et al.⁵, 2013). Todos os critérios de classificação até agora propostos não satisfazem completamente o diagnóstico de LVP. Alguns critérios por excessiva abrangência acabam por incluir casos que se comportam como LO multifocal. Outros autores definem alguns critérios de classificação tão rigorosos, principalmente quanto ao tempo de acompanhamento e espalhamento das lesões, que acabam por excluir casos fortemente sugestivos de LVP. Portanto, existe ainda grande necessidade de realizar estudos que possam testar a especificidades e sensibilidades destas diferentes propostas de critérios diagnósticos (García-Chías et al.⁹, 2014). A utilização de ferramentas que auxiliam no diagnóstico diferencial entre LVP e LO é de fundamental importância para a prática

clínica quanto a determinação do prognóstico. Além disto, uma classificação adequada dos casos de LVP permite o desenvolvimento de pesquisas com maior confiabilidade diagnóstica nos grupos amostrais.

2 PUBLICAÇÕES

2.1 Publicação 1

TITLE PAGE

EVALUATION OF THE DIAGNOSTIC CRITERIA FOR PROLIFERATIVE VERRUCOUS LEUKOPLAKIA*

Darcy Fernandes, MSc,^a Cláudia Maria Navarro, PhD,^b Mirian Aparecida Onofre, PhD,^c Elaine Maria Sgavioli Massucato, PhD,^b Andreia Bufalino, PhD^b

^aPostgraduate Student, Department of Diagnosis and Surgery, Araraquara Dental School, UNESP - Univ Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, Brazil

^bAssistant Professor, Department of Diagnosis and Surgery, Araraquara Dental School, UNESP - Univ Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, Brazil

^cAssociate Professor, Department of Diagnosis and Surgery, Araraquara Dental School, UNESP - Univ Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, Brazil

Corresponding Author: Andreia Bufalino

Department of Diagnosis and Surgery, Univ Estadual Paulista (UNESP)

CEP 14801-903, Araraquara

São Paulo, Brazil

E-mail: andreiabufalino@foar.unesp.br

FAX: (+55) 016 3301-6359

* *Artigo formatado de acordo com as normas do periódico Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology. (ISSN: 2212-4403)*

Disclosure Statement: The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

KEYWORDS: Proliferative verrucous leukoplakia, diagnostic criteria, diagnose.

ABSTRACT

Objective: Evaluate the efficiency of the diagnostic criteria for Proliferative Verrucous Leukoplakia.

Study Design: Clinical records of patients with multifocal OL from the Oral Medicine Service were analyzed. Each case was evaluated using the WHO definition of PVL, the diagnostic criteria of Cerero-Lapiedra et al. (2010), and the diagnostic criteria of Carrard et al. (2013). The control was based on the diagnosis of two specialists. Sensitivity, specificity, likelihood ratio, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) were calculated for each criteria.

Results: Forty-five cases are identified with multifocal OL. The specialists diagnosed 14 cases of PVL. By the WHO definition 21 were PVL, with sensitivity of 78%, specificity of 71%, PPV of 55%, NPV of 88% and the likelihood ratio of 2.7. By Cerero-Lapiedra et al. (2010), 27 were PVL with sensitivity of 100%, specificity of 61%, PPV of 53%, NPV of 100% and the likelihood ratio of 2.5. By Carrard et al. (2013), 4 cases were PVL with sensitivity of 21%, specificity of 96%, PPV of 75%, NPV of 73% and the likelihood ratio of 6.6.

Conclusion: None of the diagnostic criteria or definitions of PVL are efficient for clinical and research needs.

INTRODUCTION

Proliferative verrucous leukoplakia (PVL) was first described in 1985, in a case series of 30 patients.¹ The condition is a particularly aggressive form of oral leukoplakia (OL), characterized mainly by multifocal involvement, development of exophytic and wart-like lesions, and a higher risk of malignant transformation than in other forms of OL.^{1,2} Currently, the World Health Organization (WHO) only provides a description of PVL; however, some authors have reported diagnostic criteria for PVL that are used worldwide.² Cerero-Lapiedra et al³ were the first to suggest diagnostic criteria for PVL that included major and minor elements. Carrard et al⁴ suggested simplifying the diagnosis of PVL by eliminating the distinction between the major and minor criteria. Therefore, as per Carrard et al,⁴ all four criteria would have to be satisfied to make a diagnosis of PVL.

Since conventional multifocal OL shares clinical characteristics with PVL, these diagnostic criteria may be overly restrictive and represent a challenge to accurate diagnosis.⁵ Only the criteria proposed by Cerero-Lapiedra et al³ have been evaluated in a case series,⁶ and therefore we do not know the practical utility and effectiveness of these criteria compared to either the modified approach suggested by Carrard et al⁴ or the WHO definition.²⁻⁴ Thus, the objective of our study was to apply these diagnostic criteria in a set of patients with multifocal OL and evaluate the diagnostic accuracy of each approach in diagnosing PVL.

MATERIALS AND METHODS

This study was approved by the Human Research Ethics Committee of the Araraquara Dental School (Anexo). We included all cases of leukoplakia with multifocal involvement, based on the clinical diagnoses of PVL or conventional OL. The following

clinical data were recorded for each patient: sex, age, race, lesion sites, cumulative size of the lesions, histopathological features, and whether lesions spread or recurred. Photographs taken during patient follow-up were also analyzed. Raters were blinded to the previous diagnosis of PVL or OL. Each case was evaluated using the WHO definition of PVL,² the diagnostic criteria suggested by Cerero-Lapiedra et al,³ and the modified diagnostic criteria recommended by Carrard et al.⁴ Diagnostic results were compared to those of a control that was based on the diagnosis of two specialists (A.B. and C.M.N.)

Inter-rater agreement was evaluated using Cohen's kappa coefficient. Sensitivity, specificity, likelihood ratio, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) were calculated for each criteria. Sensitivity refers to the probability that a test result will be positive when PVL is present. Specificity refers to the probability that a test result will be negative when PVL is not present. PPV is the probability that PVL is present when the test is positive, and NPV is the probability that PVL is not present when the test is negative. The likelihood ratio is the ratio of the probability of a positive test result given the presence of PVL to the probability of a positive test given the absence of PVL. All analyses were conducted with GraphPad Prism, Version 6.05 (GraphPad Software, Inc.)

RESULTS

From 1995 to 2015, a total of 45 cases with multifocal leukoplakia were diagnosed, treated, and received follow-up care at the Oral Medicine Service of the Araraquara Dental School. Inter-rater agreement, as measured by the kappa coefficient, was 0.81 (95% Confidence Interval: 0.63-0.99), and falls in the range of “almost perfect” agreement according to the scale developed by Landis and Koch.⁷

Fourteen of the 45 patients were diagnosed with PVL by the specialists. As per the WHO definition,² 21/45 patients could be diagnosed with PVL. According to the diagnostic criteria suggested by Cerero-Lapiedra et al,³ 27/45 patients were diagnosed with PVL. Based on the modified diagnostic criteria suggested by Carrard et al,⁴ only 4/45 cases were diagnosed with PVL (Table 1).

Measures of sensitivity, specificity, positive and negative predictive value, and the accuracy of each set of criteria, are presented in Table 2.

DISCUSSION

PVL is a rare condition that is currently considered a more aggressive form of OL and is irreversible, resistant to all forms of treatment, and has a high recurrence rate.^{1, 2} The disease begins with an early focal presentation,⁵ and initial diagnosis may be challenging. Some authors have attempted to develop diagnostic criteria for PVL or suggested modifications to the existing approaches. However, these efforts may be insufficient for diagnosis because they are limited to clinical and histopathologic descriptions of PVL,^{1, 8, 9} or do not fully differentiate between PVL and conventional multifocal OL. Conversely, they may be too restrictive to allow an early diagnosis.

In our evaluation, the WHO definition yielded the median sensitivity, specificity, and NPV, and had a low PPV. This may be because the criteria do not represent an objective method to diagnose PVL, rather a description of commonly reported characteristics of the disease. The likelihood ratio indicates that a patient with a positive test is 2.7 times more likely to have PVL than a patient with a negative test.

The criteria suggested by Cerero-Lapiedra et al³ had the highest sensitivity, as might be expected. The combination of their major and minor criteria is less rigorous than other approaches and has the lowest PPV. Therefore, these criteria may not adequately predict the presence of PVL. The NPV for this approach was the highest of those we assessed, and these criteria may thus be recommended for use in suspected but unclear cases in order to achieve early diagnosis, as discussed by García-Chías et al.⁶ Additionally, a positive test is 2.58 times more likely to indicate PVL than a negative test, which is similar to the likelihood ratio observed when we made diagnoses as per the WHO definition.²

The modified diagnostic criteria proposed by Carrard et al⁴ had the most rigorous criteria, resulting in the lowest sensitivity and the highest specificity, as

expected. In addition, the PPV was the highest of those we assessed, and the NPV was the lowest. A positive test was 6.64 times more likely to indicate a true case of PVL than a negative test.

None of the diagnostic criteria or definitions of PVL are efficient for clinical and research needs. Therefore, since current descriptions of clinical and pathological features are not adequate, molecular studies are recommended to help establish better diagnostic tools. Our results indicate that the diagnostic criteria developed by Cerero-Lapiedra et al³ may be helpful for early diagnosis of PVL, as previously reported.⁵ On the other hand, for research purposes the use of the modified diagnostic criteria of Carrard et al⁴ is strongly recommended aiming to increase the reliability.

REFERENCES

1. Hansen LS, Olson JA, Silverman S Jr. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985 Sep;60(3):285-98.
2. El Naggar AK, Reichart PA. Proliferative verrucous leukoplakia and precancerous conditions. In: Barnes L, Everson JW, Reichart PA, Sidransky D, editors. *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology & Genetics of Head and Neck Tumours.* Lyon: IARC Press, International Agency for Research on Cancer (IARC); 2005.P.180-1.
3. Cerero-Lapiedra R, Baladé-Martínez D, Moreno-López LA, Esparza-Gómez G, Bagán JV. Proliferative verrucous leukoplakia: a proposal for diagnostic criteria. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010 Nov 1;15(6):e839-45.
4. Carrard VC, Brouns ER, van der Waal I. Proliferative verrucous leukoplakia: a critical appraisal of the diagnostic criteria. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013 May 1;18(3):e411-3.

5. Gillenwater AM, Vigneswaran N, Fatani H, Saintigny P, El-Naggar AK. Proliferative verrucous leukoplakia: recognition and differentiation from conventional leukoplakia and mimics. *Head Neck*. 2014 Nov;36(11):1662-8.
6. García-Chías B, Casado-De La Cruz L, Esparza-Gómez GC, Cerero-Lapiedra R. Diagnostic criteria in proliferative verrucous leukoplakia: evaluation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014 Jul 1;19(4):e335-9.
7. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977 Mar;33(1):159-74.
8. Ghazali N, Bakri MM, Zain RB. Aggressive, multifocal oral verrucous leukoplakia: proliferative verrucous leukoplakia or not? *J Oral Pathol Med*. 2003 Aug;32(7):383-92.
9. Gandolfo S, Castellani R, Pentenero M. Proliferative verrucous leukoplakia: a potentially malignant disorder involving periodontal sites. *J Periodontol*. 2009 Feb;80(2):274-81.

Table 1. Classification of cases using the different diagnostic criteria for PVL.

	GENDER	AGE	RACE	ORAL SITES*	TOTAL SIZE	SPREADING	RECURRENCE	HISTOPATHOLOGICAL FEATURES	WHO	CERERO-LAPIEDRA	CARRARD	CONTROL
#01	M	75	W	18, 19, 20, 21, 22	+	-	-	AC, HK, MLD, MOD, SD, OSCC	-	+	-	+
#02	M	40	B	5, 6, 14	-	-	-	AC, HK	-	-	-	-
#03	F	51	W	1, 2, 3, 4, 5, 6, 13, 14, 16, 18, 19, 22, 25	+	+	+	AC, HK, MLD, SD	+	+	-	+
#04	F	74	W	9, 13, 14, 17	+	+	-	AC, HK, MOD	+	+	-	+
#05	F	35	A	1, 2	-	-	-	AC, HK	-	-	-	-
#06	M	62	B	13, 21, 22	+	-	-	AC, HK, MLD, MOD	+	+	-	-
#07	M	47	W	1, 2	-	-	-	AC, HK, MLD	-	-	-	-
#08	F	64	W	5, 6	-	-	-	HK	-	-	-	-
#09	F	52	W	1, 2	-	-	-	HK	-	-	-	-
#10	M	54	W	1, 2, 5	-	-	-	AC, HK, MLD, MOD	+	-	-	-
#11	M	51	W	5, 6, 24, 25	+	-	-	AC, HK	-	-	-	-
#12	M	63	W	18, 19, 22	+	+	+	AC, HK	-	+	-	-
#13	M	60	W	5, 7, 22, 25	+	-	-	HK	-	-	-	-
#14	M	61	W	9, 10, 12, 13	+	+	-	AC, HK	-	-	-	-
#15	F	70	W	7, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 22, 23, 24, 25	+	+	+	AC, HK, MLD, MOD	+	+	-	+
#16	M	36	W	5, 6, 17	-	-	-	HK	-	-	-	-
#17	F	77	W	5, 6, 9, 13, 22	+	-	-	AC, HK, VC	+	+	-	+
#18	F	76	W	5, 12, 18	+	-	-	AC, HK, MOD	+	+	-	-
#19	M	58	W	1, 5, 6, 11, 12, 13, 14	+	+	+	AC, HK, MOD, OSCC, VC	+	+	+	+
#20	F	48	W	12, 23	+	-	-	SD, OSCC	+	+	-	-
#21	F	54	W	6, 14, 16, 17, 19, 22, 23	+	+	-	AC, HK, SD, OSCC	+	+	+	+
#22	M	58	W	5, 6, 20	+	-	-	AC, HK	+	+	-	-
#23	F	41	B	5, 6	-	-	-	AC, HK	-	-	-	-
#24	M	57	W	1, 2, 25	-	-	-	AC, HK	-	-	-	-
#25	F	65	W	5, 6	-	-	-	HK	-	-	-	-

Table 1. (continued)

#	GENDER	AGE	RACE	ORAL SITES*	TOTAL SIZE	SPREADING	RECURRENCE	HISTOPATHOLOGICAL FEATURES	WHO	CERERO-LAPIEDRA	CARRARD	CONTROL
#26	M	48	B	1, 2	-	-	-	HK	-	-	-	-
#27	F	52	W	9, 19, 24	-	-	-	AC, MLD, MOD	+	+	-	-
#28	F	78	W	4, 5, 11, 12, 13, 14, 24, 25	+	+	+	AC, HK, VC, OSCC	+	+	+	+
#29	F	47	W	5, 8, 11, 13, 14, 17, 20, 22, 25	+	+	-	AC, HK	-	+	-	+
#30	F	60	W	1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 19	+	+	+	AC, HK, VC	+	+	-	+
#31	F	42	W	5, 6, 7, 13	+	+	+	AC, HK, OSCC	+	+	+	-
#32	F	63	M	11, 25	-	-	-	AC, HK, MOD	+	-	-	-
#33	M	45	W	11, 12	+	+	-	HK, MLD	+	+	-	-
#34	F	62	W	4, 5, 6, 13, 14, 17, 22, 23, 24	+	+	-	AC, HK, MLD	+	+	-	+
#35	M	52	W	7, 8, 11	+	+	-	AC, HK	+	+	-	+
#36	F	41	W	11, 12	-	-	-	AC, HK	-	+	-	-
#37	F	39	B	2, 5, 6, 13, 14	-	-	-	AC, HK, MLD	-	-	-	-
#38	F	59	B	9, 13	-	-	-	AC, HK, MLD	-	+	-	-
#39	M	65	W	18, 25	-	-	-	OSCC	-	-	-	-
#40	M	48	W	18, 19, 20, 21, 22, 23	+	+	-	MOD, SD, OSCC	+	+	-	+
#41	M	36	W	5, 6, 13	+	-	-	AC, MLD	+	+	-	-
#42	F	71	W	2, 4, 5, 6, 10, 14	+	+	-	AC, HK, MLD, VC	+	+	-	+
#43	M	62	W	13, 14	-	-	-	AC	-	-	-	-
#44	F	33	W	2, 17, 18, 19	+	-	-	AC, HK	-	+	-	-
#45	M	64	W	11, 12, 19	-	-	-	AC	-	-	-	-

*Oral sites: 1) Retrocommissure area - right; 2) Retrocommissure area - left; 3) Mucosa of upper lip; 4) Mucosa of lower lip; 5) Cheek mucosa - right; 6) Cheek mucosa - left; 7) Vestibule of mouth - upper jaw right; 8) Vestibule of mouth - upper jaw left; 9) Vestibule of mouth - lower jaw right; 10) Vestibule of mouth - lower jaw left; 11) Alveolar mucosa or gingiva upper jaw - right; 12) Alveolar mucosa or gingiva upper jaw - left; 13) Alveolar mucosa or gingiva lower jaw - right; 14) Alveolar mucosa or gingiva lower jaw - left; 15) Retromolar area - right; 16) Retromolar area - left; 17) Dorsal surface of tongue; 18) Border of tongue - right; 19) Border of tongue - left; 20) Ventral surface of tongue - left; 21) Ventral surface of tongue - right; 22) Floor of mouth - left; 23) Floor of mouth - right; 24) Hard palate and 25) Soft palate. AC - Acanthosis; HK - Hyperkeratosis; MLD - Mild dysplasia; MOD - Moderate dysplasia; PVL - Proliferative verrucous leukoplakia; SD - Severe dysplasia; VC - Verrucous carcinoma and OSCC - Oral squamous cell carcinoma whether *in situ* or infiltrating. WHO - World Health Organization. Gender: F - Female and M - Male; Race: B - Black, A - Asian and M - Mixed race. Total size: less than 3 cm² (-) and greater than or equal to 3 cm² or more (+). Diagnostic criteria for PVL: positive (+) and negative (-). Spreading: yes (+) and no (-). Recurrence: yes (+) and no (-).

Table 2. Evaluation of the WHO definition and the diagnostic criteria suggested by Cerero-Lapiedra et al. 2010 and Carrard et al. 2013 for diagnosis of PVL

	WHO²	Cerero-Lapiedra³	Carrard⁴
Sensitivity	0.78 (0.49 to 0.95)	1.00 (0.77 to 1.00)	0.21 (0.05 to 0.51)
Specificity	0.71 (0.52 to 0.86)	0.61 (0.42 to 0.78)	0.97 (0.83 to 0.99)
Positive predictive value	0.55 (0.31 to 0.77)	0.54 (0.33 to 0.73)	0.75 (0.19 to 0.99)
Negative predictive value	0.88 (0.69 to 0.97)	1.00 (0.82 to 1.00)	0.73 (0.57 to 0.86)
Likelihood ratio	2.70	2.58	6.64

PVL – Proliferative verrucous leukoplakia; WHO – World Health Organization.

2.2 Publicação 2

TITLE PAGE

LICHENOID INFILTRATE IN EARLY PHASE OF PROLIFERATIVE VERRUCOUS LEUKOPLAKIA: A CLINICOPATHOLOGICAL CORRELATION STUDY*

Running title: Lichenoid infiltrate in the PVL

Keywords: Proliferative verrucous leukoplakia; Oral leukoplakia; Lichenoid infiltrate

Darcy Fernandes, MSc,^a Cláudia Maria Navarro, PhD,^a Mirian Aparecida Onofre, PhD,^a Elaine Maria Sgavioli Massucato, PhD,^a Andreia Bufalino, PhD.^a

^aDepartment of Diagnosis and Surgery, Araraquara Dental School, UNESP - Univ Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, Brazil

Correspondence to: Andreia Bufalino, Rua Humaitá, 1680, CEP 14801-903, Centro, Araraquara, São Paulo, Brazil. E-mail: andreiabufalino@foar.unesp.br

FAX: (+55) 016 3301-6359

Disclose statement: The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

* *Artigo formatado de acordo com as normas do periódico Journal of Oral Pathology & Medicine (ISSN: 1600-0714)*

ABSTRACT

Background: Proliferative verrucous leukoplakia (PVL) is a subtype of oral leukoplakia (OL), being characterized by multifocal presentation, resistance to treatment and a high rate of malignant transformation. The literature show some clinicopathological differences between OL and PVL. The aim of this study was to assess the clinicopathological differences between OL and PVL.

Methods: The clinical data from all cases diagnosed with leukoplakia were collected and compared between the groups OL and PVL.

Results: We identified a total of 86 cases of leukoplakia were included, 14 cases were diagnosed as PVL and 72 cases as OL. Regarding the location of the lesions, the buccal mucosa, the gingiva or alveolar process, the tongue and the floor of the mouth were statistically different, being more frequent on the PVL group. The PVL group presented more frequently to the total size greater or equal to 3 cm ($P < 0.0001$). The spreading ($P < 0.0001$), recurrence ($P < 0.01$) and malignization ($P < 0.001$) presented a significant difference, being more frequent in the group of PVL. We founded a significant difference between the groups related to the acanthosis ($P < 0.01$), the lichenoid inflammatory infiltrate ($P < 0.001$), the severe dysplasia ($P < 0.01$) and the verrucous carcinoma ($P < 0.0001$)

Conclusions: PVL is a particular disease from the OL, with different oral sites involvement, different clinical behavioral and of unknown etiology. the presence of lichenoid inflammatory infiltrate in early clinical phases on PVL seems to be an important differential feature relative to OL.

INTRODUCTION

Proliferative verrucous leukoplakia (PVL) is a subtype of oral leukoplakia (OL), being characterized by multifocal presentation, resistance to treatment and a high rate of malignant transformation (1, 2). The literature show some clinicopathological differences between OL and PVL, such as the age, gender, tobacco or alcohol habit, oral site affected and recurrence (1, 3). In addition, the malignant ratio reported are different, whereas the OL has a malignant transformation in 0.2 until 17.5% of cases, the PVL has a malignant transformation that varies from 60 to 100% (4, 5, 6). The aim of this study was to assess the clinicopathological differences between OL and PVL for better characterize these groups of patients.

MATERIAL AND METHODS

This study was carried out with approval of the Human Research Ethics Committee of the Araraquara Dental School (Anexo). All cases diagnosed with OL or PVL from 1995 to 2015 in the Oral Medicine Service of the Dental School of Araraquara, were selected. The clinical data from patients were recorded, being collected the age, gender, follow up period, number of biopsies, race, tobacco habits, alcohol habits, location, clinical aspect, total size, spreading, recurrence, malignant transformation and as well as the histopathological features of each biopsy. The photos of the follow up period from patients were also analyzed.

As exclusion criteria, all the patients with leukoplakia located only in the lips were excluded based on the different risk factor associated with this type of oral leukoplakia. At that time, five different oral sites were considered in this study: (1) buccal mucosa, (2) gingiva or alveolar process, (3) hard and soft palate, (4) floor of the mouth and (5) tongue. The size of lesions was categorized in two types: less than 3 cm, and greater than or equal to 3 cm. The clinical aspect of the lesions was distributed in three categories: (1) flat or thin, (2) nodular or verrucous and (3) erythroleukoplakia or speckled. All PVL cases were diagnosed based on the experience of two specialists (A.B. and C.M.N.).

For statistical analysis was used the unpaired t test with Welch's correction for continuous variables and Fisher's exact test for categorical variables. A $P < 0.05$ was considered to be statistical significant. All statistical analyses were performed using Graphpad Prism software, version 6.05.

RESULTS

We identified a total of 104 cases of leukoplakia, among these 18 cases were excluded by the exclusion criteria. A total of 86 cases was evaluated, 14 cases were diagnosed as PVL and 72 cases as OL. In the PVL group, the follow up period average was 88 months and mean number of biopsies was 4.1. The group with conventional OL has the follow up period average of 19 months, with a mean number of biopsies of 1.2. In our study, we did not find a statistical difference between the groups related to the age, gender, race, tobacco habit or alcohol habit.

Regarding the location of the lesions, the buccal mucosa, the gingiva or alveolar process, the tongue and the floor of the mouth were statistically different, being more frequent on the PVL group. The PVL group presented more frequently to the total size greater or equal to 3 cm ($P < 0.0001$). The spreading ($P < 0.0001$), recurrence ($P < 0.01$) and malignization ($P < 0.001$) presented a significant difference, being more frequent in the group of PVL. All the clinical data are presented in the Table 1.

Interestingly, we also observed that some patients diagnosed with PVL show transitional changes the clinical appearance of the lesions by time, with periods of improvement and exacerbation (lichen planus-like clinical behavior; Fig. 1).

Analyzing the histopathological findings from the patients, we founded a significant difference between the groups related to the acanthosis ($P < 0.01$), the lichenoid inflammatory infiltrate ($P < 0.001$), the severe dysplasia ($P < 0.01$) and the verrucous carcinoma ($P < 0.0001$). These aspects were more frequent in the PVL patients. All the histopathological features are listed in the Table 2.

DISCUSSION

PVL is considered an aggressive form of oral leukoplakia with high morbidity and mortality rates (7). Also it is considered more commonly in females (ratio, 4:1), and is characterized by a high recurrence rate and high rate of transformation into verrucous carcinoma or oral squamous cell carcinoma (OSCC) (1, 8, 9). Other clinical features commonly reported in this condition are the multifocal involvement, the lack of risk habits, development of a verrucous clinical aspect and the preponderance by older patients (>60 years) (2, 10). However, no differences in age and gender between PVL and OL patients were reported (9). In addition, the most common oral sites reported were the buccal mucosa and the tongue (1, 7).

Our results showed no differences in age, gender or race between PVL and OL groups, which contradict the previous reports (1, 2, 4, 11, 12). Probably, the current change in the profile of the OL patients may be related with these observed results. The lack of significance with any risk factor as tobacco or alcohol comes in concordance with the reported worldwide, showing the particularly of this disease (1, 2, 4, 11, 12). The involvement of the buccal mucosa, the gingiva or alveolar process and the tongue as well as the total size of the lesion presented on the PVL group is according to other studies. Already, the involvement of the floor of the mouth, the lack of association with the hard and soft palate or the clinical aspect of our study are in disagreement with the current literature (11, 13, 14). Spreading, recurrence and the malignant transformation rate are extremely important features for the prognosis of patients, being more frequent in PVL. The difference presented shows the importance of these particular clinical features to attempt the early diagnoses.

The histopathological features described on this condition range the presence of dense lichenoid inflammatory infiltrate, localized flat hyperplasia and hyperkeratosis, and progression to verrucous or conventional squamous cell carcinoma (15). Our results show that the lichenoid inflammatory infiltrate and the verrucous carcinoma are particular features more frequent in the PVL. The presence of this lichenoid inflammatory infiltrate associated with PVL is only reported by a few authors in the literature (10, 16, 17). Our study was the first to show this association in a large number of PVL cases and demonstrating a significant difference from OL patients. Further studies are necessary to clarify the association and the role of the lichenoid inflammatory infiltrate in the PVL patients.

The majority limitations on PVL studies, including our study, are the reduced sample size, since the rarity of this condition. In addition, the variation of methods of analyze of some studies may be correlated to the differences on the results, as well as the use of different diagnostic criteria for PVL.

We concluded with this study that the PVL is a particular disease from the OL, with different oral sites involvement, different clinical behavioral and of unknown etiology. Interestingly, the presence of lichenoid inflammatory infiltrate in early clinical phases on PVL seems to be an important differential feature relative to OL. In future, molecular studies of this microscopic pattern may clarify the role of this inflammatory process in the etiology of PVL.

REFERENCES

1. Hansen LS, Olson JA, Silverman S Jr. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1985 Sep;60(3):285-98.
2. van der Waal I, Reichart PA. Oral proliferative verrucous leukoplakia revisited. *Oral Oncol*. 2008 Aug;44(8):719-21.
3. Lee JJ, Hung HC, Cheng SJ, Chen YJ, Chiang CP, Liu BY, et al. Carcinoma and dysplasia in oral leukoplakias in Taiwan: prevalence and risk factors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006 Apr;101(4):472-80.
4. Cabay RJ, Morton TH Jr, Epstein JB. Proliferative verrucous leukoplakia and its progression to oral carcinoma: a review of the literature. *J Oral Pathol Med*. 2007 May;36(5):255-61.
5. Bagan J, Scully C, Jimenez Y, Martorell M. Proliferative verrucous leukoplakia: a concise update. *Oral Dis*. 2010 May;16(4):328-32.
6. Gouvêa AF, Moreira AE, Reis RR, de Almeida OP, Lopes MA. Proliferative verrucous leukoplakia, squamous cell carcinoma and axillary metastasis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010 Sep 1;15(5):e704-8.
7. El Naggar AK, Reichart PA. Proliferative verrucous leukoplakia and precancerous conditions. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart PA, Sidransky D, editors. *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology & Genetics of Head and Neck Tumours*, Lyon: IARC Press, International Agency for Research on Cancer (IARC); 2005. p. 180-1.
8. Bagan JV, Jimenez Y, Sanchis JM, Poveda R, Milian MA, Murillo J, Scully C. Proliferative verrucous leukoplakia: high incidence of gingival squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2003 Aug;32(7):379-82.
9. Gandolfo S, Castellani R, Pentenero M. Proliferative verrucous leukoplakia: a potentially malignant disorder involving periodontal sites. *J Periodontol*. 2009 Feb;80(2):274-81.
10. Gillenwater AM, Vigneswaran N, Fatani H, Saintigny P, El-Naggar AK. Proliferative verrucous leukoplakia: recognition and differentiation from conventional leukoplakia and mimics. *Head Neck*. 2014 Nov;36(11):1662-8.
11. Silverman S Jr, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. *Cancer*. 1984 Feb 1;53(3):563-8.

12. Navarro CM, Sposto MR, Sgavioli-Massucato EM, Onofre MA. Transformation of proliferative verrucous leukoplakia to oral carcinoma: a ten years follow-up. *Med Oral*. 2004 May-Jul;9(3):229-33.
13. Brouns E, Baart J, Karagozoglu Kh, Aartman I, Bloemena E, van der Waal I. Malignant transformation of oral leukoplakia in a well-defined cohort of 144 patients. *Oral Dis*. 2014 Apr;20(3):e19-24.
14. Bagan JV, Jiménez-Soriano Y, Diaz-Fernandez JM, Murillo-Cortés J, Sanchis-Bielsa JM, Poveda-Roda R, Bagan L. Malignant transformation of proliferative verrucous leukoplakia to oral squamous cell carcinoma: a series of 55 cases. *Oral Oncol*. 2011 Aug;47(8):732-5.
15. Gillenwater AM, Vigneswaran N, Fatani H, Saintigny P, El-Naggar AK. Proliferative verrucous leukoplakia (PVL): a review of an elusive pathologic entity! *Adv Anat Pathol*. 2013 Nov;20(6):416-23.
16. Mete O, Keskin Y, Hafiz G, Kayhan KB, Unur M. Oral proliferative verrucous leukoplakia: Underdiagnosed oral precursor lesion that requires retrospective clinicopathological correlation. *Dermatol Online J*. 2010 May 15;16(5):6.
17. Morton TH, Cabay RJ, Epstein JB. Proliferative verrucous leukoplakia and its progression to oral carcinoma: report of three cases. *J Oral Pathol Med*. 2007 May;36(5):315-8.

Table 1. Clinical and demographic features compared between PVL and OL patients.

	PVL (n=14) N (%)	OL (n=72) N (%)	OR (95% IC)	P-value
Age (mean ± SEM)	63 ± 3.0	56 ± 1.5		0.0531
Gender				
Female	10 (71.43)	31 (43.06)	3.3 (0.9 to 12.0)	0.0783
Male	4 (28.57)	41 (56.94)		
Race				
White	14 (100.00)	61 (84.72)	5.4 (0.3 to 98.0)	0.1985
Black	0 (0.00)	7 (9.73)	0.3 (0.1 to 5.6)	0.5929
Others	0 (0.00)	4 (5.55)	0.5 (0.02 to 10.0)	1.0000
Tobacco habit				
Yes	8 (57.14)	57 (79.17)	0.4 (0.1 to 1.2)	0.0959
No	6 (42.86)	15 (20.83)		
Alcohol habit				
Yes	4 (28.57)	31 (43.06)	0.5 (0.2 to 1.8)	0.3831
No	10 (71.43)	41 (56.94)		
Location				
Buccal mucosa	12 (85.71)	39 (54.16)	5.1 (1.1 to 24.0)	0.0370
Gingiva or alveolar process	12 (85.71)	19 (26.39)	17.0 (3.4 to 82.0)	< 0.0001
Tongue	8 (57.14)	17 (23.61)	4.3 (1.3 to 14.0)	0.0213
Floor of the mouth	8 (57.14)	7 (9.72)	12.0 (3.3 to 46.0)	0.0002
Hard and soft palate	5 (35.71)	14 (19.44)	2.3 (0.7 to 7.9)	0.2879
Clinical Aspect				
Flat or thin	3 (21.43)	31 (43.05)	0.4 (0.1 to 1.4)	0.1497
Nodular or verrucous	7 (50.00)	27 (37.50)	1.7 (0.5 to 5.3)	0.3898
Erythroleukoplakia or speckled	4 (28.57)	14 (19.45)	1.7 (0.5 to 6.1)	0.4789
Total size				
< 3cm	0 (0.00)	52 (72.22)	0.1 (0.1 to 0.3)	< 0.0001
≥ 3 cm	14 (100.00)	20 (27.78)		
Spreading	12 (85.71)	5 (6.94)	80.0 (14.0 to 463.0)	< 0.0001
Recurrence	5 (35.71)	4 (5.55)	9.4 (2.1 to 42.0)	0.0049
Malignant transformation	8 (57.14)	11 (15.28)	7.4 (2.1 to 26.0)	0.0019

*PVL – Proliferative verrucous leukoplakia; OL – Oral Leukoplakia; SEM – Standard Error Mean.

Table 2. Histopathological features compared between PVL and OL patients.

	PVL (n=14) N (%)	OL (n=72) N (%)	OR (95% IC)	P-value
Acanthosis	13 (92.86)	43 (59.72)	8.8 (1.1 to 71)	0.0286
Hyperkeratosis	13 (92.86)	47 (65.28)	6.9 (0.85 to 56)	0.0550
Lichenoid inflammatory infiltrate	9 (64.26)	11 (15.28)	10 (2.8 to 35)	0.0004
Mild dysplasia	5 (35.71)	16 (22.22)	1.9 (0.57 to 6.6)	0.3152
Moderate dysplasia	4 (33.33)	8 (11.11)	4.0 (0.98 to 16)	0.0641
Severe dysplasia	4 (33.33)	3 (4.17)	12 (2.2 to 61)	0.0070
Verrucous carcinoma	5 (35.71)	0 (0.00)	84 (4.3 to 1642)	< 0.0001
Squamous cell carcinoma	5 (35.71)	11 (15.28)	3.1 (0.87 to 11)	0.1253

PVL – Proliferative verrucous leukoplakia; OL – Oral Leukoplakia.

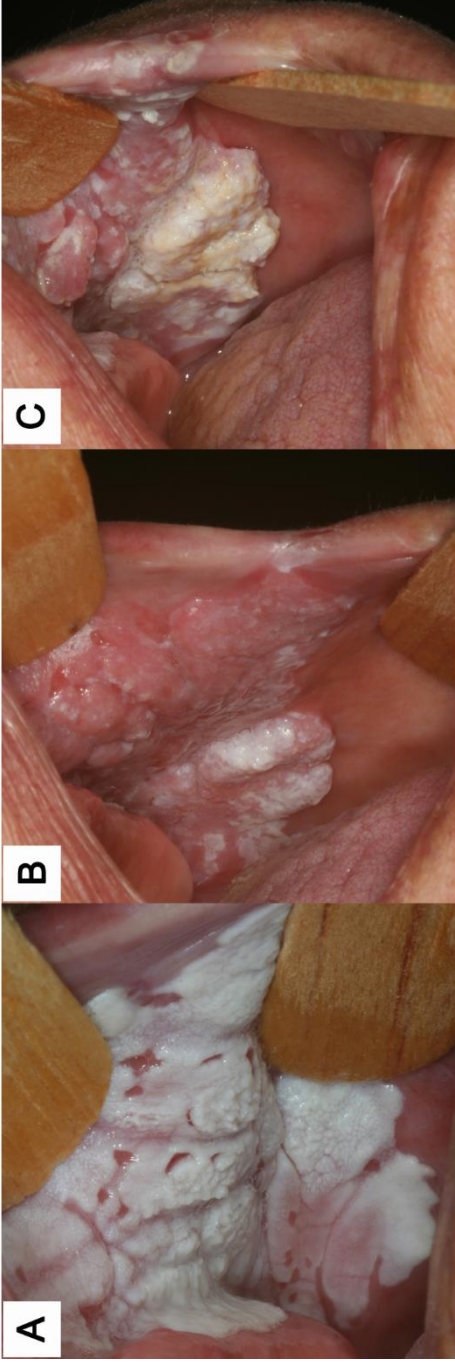


Figure 1. Transitional changes in the clinical appearance of the lesions by time, with periods of improvement and exacerbation (lichen planus-like clinical behavior). A) First moment; B) Three months of follow up, and C) Ten months of follow up.

3 CONCLUSÃO

Conclui-se que nenhum dos atuais critérios diagnósticos ou definição para LVP é eficiente para as necessidades clínicas e de pesquisa. Portanto, mais estudos moleculares são recomendados para ajudar a estabelecer melhores métodos diagnósticos. Nossos resultados indicam que o critério diagnóstico desenvolvido por Cerero-Lapiedra et al.⁵ (2010) pode ser útil para o diagnóstico precoce da LVP. Por outro lado, para efeitos de pesquisa científica, a utilização do critério de diagnóstico modificado por Carrard et al.⁶ (2013) é recomendada com o objetivo de aumentar a confiabilidade.

Também concluímos que a LVP é uma condição distinta da LO, com diferentes sítios orais envolvidos, diferentes comportamentos clínicos e de etiologia desconhecida. Curiosamente, a presença de infiltrado inflamatório liquenóide em fases clínicas iniciais sobre LVP parece ser uma característica importante diferencial em relação a LO. No futuro, estudos moleculares desse padrão microscópico podem esclarecer o papel deste processo inflamatório na etiologia da LVP.

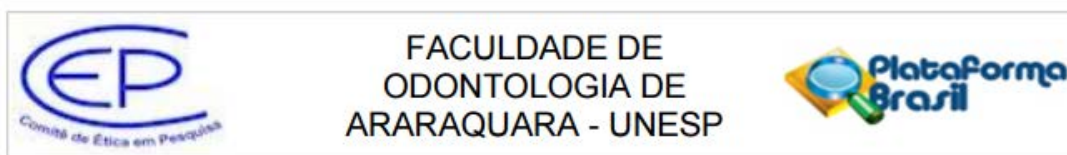
REFERÊNCIAS*

1. Amagasa T, Yamashiro M, Uzawa N. Oral premalignant lesions: from a clinical perspective. *Int J Clin Oncol*. 2011; 16(1): 5-14.
2. Bagan J, Scully C, Jimenez Y, Martorell M. Proliferative verrucous leukoplakia: a concise update. *Oral Dis*. 2010; 16(4): 328-32.
3. Bagan JV, Scully C. Recent advances in Oral Oncology 2007: epidemiology, aetiopathogenesis, diagnosis and prognostication. *Oral Oncol*. 2008; 44(2): 103-8.
4. Cabay RJ, Morton TH, Jr., Epstein JB. Proliferative verrucous leukoplakia and its progression to oral carcinoma: a review of the literature. *J Oral Pathol Med*. 2007; 36(5): 255-61.
5. Carrard VC, Brouns ER, van der Waal I. Proliferative verrucous leukoplakia; a critical appraisal of the diagnostic criteria. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013; 18(3): e411-3.
6. Cerero-Lapiedra R, Baladé-Martínez D, Moreno-López LA, Esparza-Gómez G, Bagán JV. Proliferative verrucous leukoplakia: a proposal for diagnostic criteria. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010; 15(6): e839-45.
7. El Naggar AK, Reichart PA. Proliferative verrucous leukoplakia and precancerous conditions. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. *World Health Organization classification of tumours: pathology & genetics of head and neck tumours*. Lyon: IARC Press, 2005. p. 180-1.
8. Gale N, Pilch BZ, Sidransky D, Westra W, Califano J. Epithelial precursor lesions. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. *World Health Organization classification of tumours: pathology & genetics of head and neck tumours*. Lyon: IARC Press; 2005. p. 177-9.
9. García-Chías B, Casado-De La Cruz L, Esparza-Gómez GC, Cerero-Lapiedra R. Diagnostic criteria in proliferative verrucous leukoplakia: evaluation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014; 19(4): e335-9.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/#biblioteca/manual>.

10. Gouvea AF, Moreira AE, Reis RR, de Almeida OP, Lopes MA. Proliferative verrucous leukoplakia, squamous cell carcinoma and axillary metastasis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010; 15(5): e704-8.
11. Hansen LS, Olson JA, Silverman S Jr. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1985; 60(3): 285-98.
12. Kujan O, Oliver RJ, Khattab A, Roberts SA, Thakker N and Sloan P: Evaluation of a new binary system of grading oral epithelial dysplasia for prediction of malignant transformation. *Oral Oncol*. 2006; 42(10): 987-93.
13. Petti S. Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review. *Oral Oncol*. 2003; 39(8): 770-80.
14. Roosaar A, Yin L, Johansson AL, Sandborgh-Englund G, Nyren O, Axell T. A long-term follow-up study on the natural course of oral leukoplakia in a Swedish population-based sample. *J Oral Pathol Med*. 2007; 36(2): 78-82.
15. Scully C. Challenges in predicting which oral mucosal potentially malignant disease will progress to neoplasia. *Oral Dis*. 2014; 20(1): 1-5.
16. Silverman S Jr, Gorsky M. Proliferative verrucous leukoplakia: a follow-up study of 54 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1997; 84(2): 154-7.
17. Schopenhauer A. *Sobre a filosofia e seu método*. São Paulo: Hedra; 2010.
18. van der Waal I, Reichart PA. Oral proliferative verrucous leukoplakia revisited. *Oral Oncol*. 2008; 44(8): 719-21.
19. van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; present concepts of management. *Oral Oncol*. 2010; 46(6): 423-5.
20. van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol*. 2009; 45(4-5): 317-23.
21. Warnakulasuriya KA, Tavassoli M, Johnson NW. Relationship of p53 overexpression to other cell cycle regulatory proteins in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 1998; 27(8): 376-81.
22. Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med*. 2007; 36(10): 575-80.

ANEXO



FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE
ARARAQUARA - UNESP

COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: ESTUDO DA IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES PARA LEUCOPLASIA ORAL E LEUCOPLASIA VERRUCOSA PROLIFERATIVA

Pesquisador: Andreia Bufalino

Versão: 2

CAAE: 34361814.9.0000.5416

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: 065565/2014

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE
ARARAQUARA - UNESP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DA IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES PARA LEUCOPLASIA ORAL E LEUCOPLASIA VERRUCOSA PROLIFERATIVA

Pesquisador: Andreia Bufalino

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 34361814.9.0000.5416

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 822.355

Data da Relatoria: 07/10/2014

Apresentação do Projeto:

O Projeto de Pesquisa apresenta uma introdução que descreve a importância de identificar biomarcadores tumorais para leucoplasia oral e leucoplasia verrucosa proliferativa para auxiliar no diagnóstico e tratamento destas doenças que acometem um grande número de pessoas.

Objetivo da Pesquisa:

Identificar potenciais biomarcadores tumorais para leucoplasias e leucoplasia verrucosa proliferativa que possam futuramente serem auxiliares no diagnóstico, prognóstico e tratamento destas doenças.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos que os pacientes estarão sujeitos, segundo o Pesquisador Responsável, poderão ocorrer durante a realização da biópsia e dor após a cirurgia.

Em relação aos benefícios, de acordo com o diagnóstico da biópsia, os pacientes receberão o tratamento adequado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A Pesquisa irá utilizar material biológico obtido de pacientes que procuram tratamento de suas

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

CEP: 14.801-903

UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: 1633-0164

Fax: 1633-0164

E-mail: cep@foar.unesp.br; mnagle@foar.unesp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE
ARARAQUARA - UNESP



Continuação do Parecer: 822.355

lesões na Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP e, para validação por imuno-histoquímica utilizará amostra de tecidos parafinizados e culturas de linhagens de células para validação em culturas, ambos "in vitro".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi alterado, agora escrito em linguagem para leigo, no singular referindo-se somente ao Paciente que irá participar ou não da pesquisa. Os riscos e benefícios referentes à biópsia estão claros, bem como todos os cuidados que serão tomados antes e após a cirurgia.

Recomendações:

Corrigir algumas palavras digitadas erradas e algumas frases sem concordância no projeto completo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As recomendações e dúvidas relacionadas pelo Parecerista foram atendidas. Sendo assim, aprovo a realização do Projeto de Pesquisa.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Protocolo APROVADO em reunião de 7 de outubro de 2014.

ARARAQUARA, 07 de Outubro de 2014

Assinado por:
Maurício Meirelles Nagle
(Coordenador)

Endereço: HUMAITA 1680

Bairro: CENTRO

UF: SP

Telefone: 1633-0164

Município: ARARAQUARA

Fax: 1633-0164

CEP: 14.801-903

E-mail: cep@foar.unesp.br; mnagle@foar.unesp.br

Não autorizo a reprodução deste trabalho até 6 de agosto de 2017.

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 06 de Agosto de 2015.

DARCY FERNANDES