



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

ALEXANDRO BARBOSA DE AZEVEDO

**DESORDENS POTENCIALMENTE MALIGNAS ORAIS:
análise clínica e patológica retrospectiva de 953 casos com ênfase na
displasia epitelial oral**

**ORAL POTENTIALLY MALIGNANT DISORDERS:
a retrospective clinical and pathological analysis of 953 cases with emphasis
on oral epithelial dysplasia**

Piracicaba - SP

2020

ALEXANDRO BARBOSA DE AZEVEDO

**DESORDENS POTENCIALMENTE MALIGNAS ORAIS:
análise clínica e patológica retrospectiva de 953 casos com ênfase na
displasia epitelial oral**

**ORAL POTENTIALLY MALIGNANT DISORDERS:
a retrospective clinical and pathological analysis of 953 cases with emphasis
on oral epithelial dysplasia**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Estomatopatologia, na Área de Estomatologia.

Dissertation presented to the Piracicaba Dental School of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Stomatopathology, in Stomatology area.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Ramôa Pires

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO
ALUNO ALEXANDRO BARBOSA DE
AZEVEDO, E ORIENTADA PELO PROF. DR.
FÁBIO RAMÔA PIRES.

Piracicaba - SP

2020

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

Azevedo, Alexandro Barbosa de, 1976-
Az25d Desordens potencialmente malignas orais : análise clínica e patológica retrospectiva de 953 casos com ênfase na displasia epitelial oral / Alexandro Barbosa de Azevedo. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Fábio Ramôa Pires.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Leucoplasia bucal. 2. Eritroplasia. 3. Queilite. I. Pires, Fábio Ramôa. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Oral potentially malignant disorders : a retrospective clinical and pathological analysis of 953 cases with emphasis on oral epithelial dysplasia

Palavras-chave em inglês:

Leukoplakia, oral

Erythroplasia

Cheilitis

Área de concentração: Estomatologia

Titulação: Mestre em Estomatopatologia

Banca examinadora:

Fábio Ramôa Pires [Orientador]

Márcio Ajudarte Lopes

Maria Elisa Rangel Janini

Data de defesa: 24-07-2020

Programa de Pós-Graduação: Estomatopatologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0001-5736-7354>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/8215713836600646>



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 24 de julho de 2020, considerou o candidato ALEXANDRO BARBOSA DE AZEVEDO aprovado.

PROF. DR. FÁBIO RAMÔA PIRES

PROF^a. DR^a. MARIA ELISA RANGEL JANINI

PROF. DR. MÁRCIO AJUDARTE LOPES

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha amada esposa Fábiana, por sempre acreditar nos meus sonhos e sonhar junto comigo, compartilhando momentos bons e ruins para que chegássemos até aqui. Não teria conseguido “navegar” e vencer tantos “mares revoltos” sem você ao meu lado. Te amo muito!

A meu amado filho Nicolas, que representa o verdadeiro significado da palavra amor.

Aos meus pais, Ereci e Clotilde, que sempre lutaram para me proporcionar tudo de melhor, significando os maiores exemplos de amor, coragem e caráter da minha vida.

Aos meus queridos irmãos Angela, Edson, Verônica e José Henrique, pelos exemplos de dedicação e coragem que sempre foram para mim.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Fábio Ramôa Pires, pela confiança, paciência, ensinamentos, profissionalismo, retidão, sinceridade e fraterna amizade dispensados.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e à Nossa Senhora Aparecida por todas as bênçãos que me concederam, permitindo que concluísse mais essa jornada em minha vida;

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Magnífico Reitor, Marcelo Knobel;

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do seu Diretor, Francisco Haiter Neto e Diretor Associado, Flávio Henrique Baggio Aguiar;

Ao Professor Doutor Márcio Ajudarte Lopes, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Estomatopatologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba–UNICAMP, pela consideração a mim dispensada, abrindo as portas do OROCENTRO e compartilhando seu conhecimento;

Aos Professores Doutores Alan Roger Santos Silva, Edgard Graner, Jacks Jorge Júnior, Marcio Ajudarte Lopes, Pablo Agustin Vargas, Ricardo Della Coletta e Oslei Paes de Almeida, professores das áreas de Patologia e Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba–UNICAMP, pela forma cortês com que me receberam;

À Marinha do Brasil, especificamente aqui representada pela Diretoria-Geral do Pessoal da Marinha, Diretoria do Pessoal Militar da Marinha, Diretoria de Saúde da Marinha, Centro Médico Assistencial da Marinha e Odontoclínica Central da Marinha pela aquiescência da minha indicação para realização deste curso e por todas as oportunidades profissionais que me concedeu;

Aos Exmos Senhores Vice-Almirantes Claudio Henrique Mello de Almeida e Sergio Fernando de Amaral Chaves Junior, e a toda tripulação do Comando do 8º Distrito Naval, pelo suporte a mim concedido durante todo o período de permanência em Piracicaba;

Aos Capitães-de-Mar-e-Guerra (RM1-CD) Antônio Jatobá Lins Filho e Alexandre Guimarães Gonçalves, ex-diretores da Odontoclínica Central da Marinha, pela indicação, retidão e apoio para a realização desse curso;

Ao Capitão de Mar e Guerra (RM1-CD) Marco Aurelio Carvalho de Andrade. Desde que iniciamos nosso projeto para criação de uma Clínica de Estomatologia na Odontoclínica Central da Marinha, muitos mares foram navegados e muitos combates travados. Contudo, a força de um sonho sempre foi maior e mais forte, nos dando um Norte para prosseguir e cumprir nossa missão. Hoje, nossa Odontoclínica consegue suprir uma deficiência que perdurava há

décadas, com atendimento em Estomatologia de qualidade, baseado em protocolos que o senhor implementou e que se fundiram com a filosofia de atendimento de toda nossa OM. Agradeço a Deus pela sua amizade, confiança, incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida profissional e pessoal, que refletem hoje, na subida de mais um degrau em minha carreira. Obrigado, chefe!

Aos amigos e colegas da Odontoclínica Central da Marinha que em menor ou maior grau desejaram o meu sucesso nessa jornada;

À toda equipe do laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da UERJ, especialmente à Professora Teresa e aos técnicos Aline e Marcelo, que sempre me receberam com todo carinho e se desdobraram para ajudar na realização da nossa pesquisa;

À Professora Doutora Maria Elisa Rangel Janini, por tudo que a sua história de dedicação à Estomatologia representa e por toda experiência que dividiu comigo, enquanto seu aluno. Profissional humana como a senhora, deveria servir de modelo para todos que queiram ingressar nessa especialidade! Obrigado por todo seu apoio;

Ao meu eterno Staff Celso Mendes da Silveira, a quem considero culpado por despertar minha paixão pela Odontologia. Minha eterna gratidão e reconhecimento pela amizade, incentivo, confiança e apoio incondicionais. Obrigado paizão!

Ao grande amigo e Cirurgião Craniomaxilofacial Cláudio Karl, por ter guiado meus primeiros passos para conquista da minha carreira profissional. Minha gratidão eterna;

A todos os meus colegas de pós-graduação, pela saudável convivência no OROCENTRO, especialmente aos amigos Érica e Pedro Curioso (*in memoriam*), pela amizade e companheirismo que me dispensaram;

À minha irmã Verônica, por ter sido minha inspiração para ingressar na Faculdade de Odontologia. Minhas conquistas também são suas;

A todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho, e especialmente ao “meu paciente”, representado aqui, por todos aqueles que atendi no Centro de Oncologia do Hospital dos Fornecedores de Cana e no OROCENTRO da FOP-UNICAMP, razão maior de toda minha dedicação, estudo e esforço. Que os conhecimentos por mim adquiridos sejam plenamente revertidos em vosso favor.

RESUMO

As desordens potencialmente malignas orais são lesões com maior possibilidade de progressão para carcinoma espinocelular. Este processo é influenciado por diversos fatores clínicos e histológicos das lesões. Embora a presença e a gravidade da displasia epitelial nessas lesões sejam consideradas os fatores prognósticos mais importantes, os critérios para classificação histológica destas lesões ainda não são totalmente aceitos. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi descrever e analisar os aspectos clínicos, epidemiológicos e histológicos das desordens potencialmente malignas orais diagnosticadas em um laboratório de Patologia Bucal. Foram selecionados todos os casos com diagnóstico de Leucoplasia, Leucoeritroplasia, Eritroplasia e Queilite Actínica, entre os anos de 2005 e 2018, do laboratório de Patologia Bucal da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. As informações clínicas foram obtidas a partir das requisições laboratoriais e foi realizada revisão histológica das lâminas de todos os casos, seguindo os critérios recomendados pela Organização Mundial da Saúde. A amostra final foi constituída por 953 lesões diagnosticadas em 534 mulheres (56%) e 419 homens (44%). A idade média dos pacientes foi de 59,7 anos e 87,5% dos pacientes encontravam-se entre os 41 e os 80 anos. As regiões mais acometidas foram o lábio inferior (20,1%), a língua (18,1%) e a mucosa jugal (16,9%). Leucoplasias, queilites actínicas, leucoeritroplasias e eritroplasias representaram, respectivamente, 74,6%, 15,2%, 9,3% e 0,8% dos casos. A histologia revelou que 42,1% dos casos não apresentavam displasia, 33,5% displasia leve, 14,6% displasia moderada e 9,9% displasia intensa. Lesões localizadas na língua, no assoalho de boca e no lábio inferior tiveram maior incidência de displasia moderada ou intensa. A hiperparaqueratose foi mais frequente nas displasias moderadas e intensas. Os critérios histológicos mais prevalentes foram o aumento do número e tamanho dos nucléolos, a perda de polaridade das células basais e a variação no tamanho e forma celular. Pelo sistema binário, 7% das lesões eram de alto risco. A presença de figuras mitóticas normais ou anormais superficiais pareceu demonstrar importância no diagnóstico das displasias. Como conclusão, todos os critérios histológicos usados para diagnóstico e classificação das displasias apresentaram aumento da frequência com o avanço da displasia. Critérios adicionais, como a presença de figuras mitóticas normais ou anormais superficiais e proliferação epitelial endofítica, parecem mostrar utilidade adicional na classificação das displasias.

Palavras-chave: Leucoplasia bucal; Eritroplasia; Queilite.

ABSTRACT

Oral potentially malignant disorders are a group of entities that carry a higher risk to progress to oral squamous cell carcinoma. This process is influenced by numerous clinical, histological and molecular features associated with the lesions. The grade of dysplasia is one of the most important risk factors for malignant transformation, but the criteria used for grading are still a matter of debate. Therefore, the aim of the present study was to describe and analyze the clinical and histological characteristics from a series of oral potentially malignant disorders diagnosed in a single Center in a 14-year period. The files of the Oral Pathology Laboratory, Dental School, Rio de Janeiro State University, were reviewed from 2005 to 2018 and all cases diagnosed as leukoplakia, leukoerythroplakia, erythroplakia and actinic cheilitis were selected. Clinical information was obtained from the laboratory forms provided with the specimens and 5 μ m HE-stained histological sections from all cases were reviewed for microscopical analysis, according with the criteria recommended by the World Health Organization. The final sample was composed by 953 lesions, affecting 534 females (56%) and 419 males (44%). Mean age was 59.7 years and 87.5% of the patients were 41 to 80 years-old. The most affected regions were the lower lip (20.1%), tongue (18.1%) and buccal mucosa (16.9%). Leukoplakias, actinic cheilitis, leukoerythroplakias and erythroplakias represented, respectively, 74.6%, 15.2%, 9.3% and 0.8% of the sample. Most cases presented no dysplasia (42.1%), and mild, moderate and severe dysplasia were found in, respectively, 33.5%, 14.6% and 9.9% of the cases. Lesions located in the tongue, floor of mouth and lower lip showed higher frequencies of moderate/intense epithelial dysplasias. Hyperparakeratosis was also more frequent in moderate/intense epithelial dysplasias. The most common histological criteria were the increase in number and size of nucleoli, loss of polarity of the basal cells, and variations in cellular size and shape. Classification by the binary system showed that 7% were high-risk lesions. The presence of superficial normal and abnormal mitotic figures seems to be an important additional criteria for diagnosis of epithelial dysplasia. In conclusion, all histological criteria used for diagnosis and grading of oral epithelial dysplasia showed increased frequency as grading increases. Some additional criteria, such as the presence of superficial normal and abnormal mitotic figures and endophytic epithelial proliferation, seem to be useful in grading oral epithelial dysplasias.

Key words: Oral Leukoplakia; Erythroplakia; Cheilitis.

LISTA DE ABREVIATURAS

- AC - actinic cheilitis
- HPV - human papillomavírus
- OE - oral erythroplakias
- OL - oral leukoplakias
- OLE - oral leukoerythroplakias
- OPMD - oral potentially malignant disorders
- PVL - proliferative verrucous leukoplakia
- SCC - squamous cell carcinoma
- WHO - World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	ARTIGO – Oral potentially malignant disorders: a retrospective clinical and pathological analysis of 953 cases with emphasis on oral epithelial dysplasia ..	14
3	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40
	ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa	43
	ANEXO 2 – Comprovante de submissão do artigo	53
	ANEXO 3 – Relatório de verificação de originalidade e prevenção de plágio	54

1 INTRODUÇÃO

O câncer da cavidade oral e dos lábios apresentou uma incidência mundial acima de 350 mil novos casos em 2018, causando cerca de 177 mil mortes (Globocan, 2018). O carcinoma espinocelular ou carcinoma de células escamosas representa entre 80 a 95% das neoplasias nesta localização anatômica (Villa et al., 2011; Dost et al., 2013; Ferreira et al., 2016; Ganesh et al., 2018; Mello et al., 2018) e ainda registra baixas taxas de sobrevida média em 5 anos, ao redor de 50%, principalmente devido ao diagnóstico em estágios avançados (Ho et al., 2009; Liu et al., 2011; Villa et al., 2011; Dost et al., 2013; Ferreira et al., 2016; Nikitakis et al., 2018; Yang et al., 2018). Em estágios iniciais o CEC é assintomático ou os poucos sintomas presentes são inespecíficos, e as alterações clínicas produzidas podem ser sutis (Villa et al., 2011).

Contudo, está bem estabelecido que uma parcela importante dos cânceres de boca pode ser precedida por alterações teciduais observadas durante o exame clínico oral de rotina e que podem ser diagnosticadas por meio do exame histopatológico (Brothwell et al., 2003; Hsue et al., 2007; Warnakulasuriya et al., 2007; Ho et al., 2009; Alvarado et al., 2011; Liu et al., 2011; Villa et al., 2011; Villa e Gohel, 2014; Woo et al., 2014; Van der Waal, 2015; Ferreira et al., 2016; Ganesh et al., 2018; Nikitakis, 2018; Nikitakis et al., 2018; Soares et al., 2018; Yang et al., 2018; Ranganathan e Kavitha, 2019; Ikeda et al., 2020; Pinto et al., 2020; Pires et al., 2020). Essas alterações são descritas como desordens potencialmente malignas orais e apresentam potenciais variados de progressão para malignidade, sendo difícil prever o curso evolutivo preciso para cada paciente (Warnakulasuriya et al., 2007; Villa et al., 2011; Warnakulasuriya et al., 2011; Villa e Gohel, 2014; Van der Waal, 2015; Mello et al., 2018; Nikitakis, 2018; Speight et al., 2018).

A detecção precoce e o manejo adequado dessas desordens proporcionam uma oportunidade para prevenção do desenvolvimento do câncer de boca, em especial quando associados à interrupção da exposição dos pacientes aos seus fatores de risco (Brothwell et al., 2003; Villa et al., 2011; Mello et al., 2018; Nikitakis et al., 2018; Ikeda et al., 2020). Essas desordens incluem um extenso grupo de entidades, dentre as quais a leucoplasia oral, a eritroplasia oral, a leucoeritroplasia oral, a queilite actínica, o líquen plano oral, a fibrose submucosa oral, o lupus eritematoso discoide, a queratose do tabaco sem fumaça, as lesões palatinas associadas ao fumo invertido, a candidíase crônica, a glossite sifilítica, a doença do enxerto versus hospedeiro e alguns distúrbios hereditários, como a disqueratose congênita e a anemia de Fanconi (Villa et al., 2011; Ferreira et al., 2016; El-Naggar et al., 2017; Ganesh et

al., 2018; Müller, 2018; Ranganathan e Kavitha, 2019; Soares et al., 2018; Speight et al., 2018; Warnakulasuriya, 2018). Entretanto, vários aspectos clínico-patológicos das desordens potencialmente malignas orais ainda não são totalmente compreendidos, comprometendo a capacidade de prevenir, diagnosticar e tratar com sucesso os estágios que precedem o desenvolvimento do câncer de boca (Nikitakis, 2018). Estudos de grandes séries de casos que incluam os aspectos clínicos e histopatológicos das desordens podem desempenhar um papel importante para elucidar o perfil clinicopatológico dessas condições em uma determinada população. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi descrever e analisar os aspectos clínicos, epidemiológicos e realizar a análise histopatológica detalhada das leucoplasias orais, leucoeritropias orais, eritropias orais e queilites actínicas diagnosticadas entre os anos de 2005 e 2018, no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

2 ARTIGO

Artigo submetido ao periódico Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology and Oral Radiology

Oral potentially malignant disorders: a retrospective clinical and pathological analysis of 953 cases with emphasis on oral epithelial dysplasia

Alexandro Barbosa de Azevedo¹, Teresa Cristina Ribeiro Bartholomeu dos Santos², Fábio Ramoa Pires³

¹ DDS, Oral Pathology, Piracicaba Dental School, State University of Campinas, Piracicaba/SP, Brazil – e-mail: azevedocd@gmail.com

² DDS, MSc, Oral Pathology, School of Dentistry, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ – Brazil – e-mail: tcnath2507@gmail.com

³ DDS, PhD, Oral Pathology, School of Dentistry, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ – Brazil – e-mail: ramoafop@yahoo.com

Corresponding author:

Professor Fábio Ramôa Pires, DDS, PhD

Oral Pathology, School of Dentistry, State University of Rio de Janeiro

Av. 28 de setembro, 157 - Vila Isabel - CEP: 20551-030 - Rio de Janeiro/RJ - Brazil.

Telephone/Fax: +55 21 2868-8284; E-mail: ramoafop@yahoo.com

Declarations of interest: none

Word count: abstract (198), manuscript (4381); references: 59; figures: none; tables: 7

Abstract

Background: to analyze the clinical and histological characteristics from a series of oral potentially malignant disorders diagnosed in a 14-year period. **Methods:** the files were reviewed and all cases diagnosed as leukoplakia, leukoerythroplakia, erythroplakia and actinic cheilitis were selected. Clinical information was obtained from the laboratory forms and histological review was performed in all cases. **Results:** final sample included 953 lesions, mostly affecting females (534, 56%) and 87.5% of the patients were 41 to 80 years-old. The most affected regions were the lower lip (20.1%), tongue (18.1%) and buccal mucosa (16.9%). Leukoplakias, actinic cheilitis, leukoerythroplakias and erythroplakias represented, respectively, 74.6%, 15.2%, 9.3% and 0.8% of the sample. Most cases presented no dysplasia (42.1%) or mild dysplasia (33.5%). Lesions in the tongue, floor of mouth and lower lip, as well as lesions that presented hyperparakeratosis, showed higher frequencies of moderate/intense epithelial dysplasias. The most common histological criteria were the increase in number and size of nucleoli, loss of polarity of the basal cells, and variations in cellular size and shape. Classification by the binary system showed that 7% were high-risk lesions. **Conclusion:** all histological criteria showed increased frequency as grading increased. Additional criteria seem to be useful in grading oral epithelial dysplasias, such as the presence of normal and abnormal superficial mitotic figures and endophytic epithelial proliferation.

Key-words: Leukoplakia; Erythroplakia; Leukoerythroplakia; Actinic cheilitis; Oral; Potentially malignant disorders; Oral dysplasia.

Introduction

Oral potentially malignant disorders (OPMD) are a group of entities that carry a higher risk of development of squamous cell carcinoma (SCC) when compared with normal oral mucosa.¹ Several aspects from these entities are still not completely understood, compromising the effectiveness of prevention, prompt diagnosis and management of the stages that precede the development of oral SCC.² Since the first attempts to establish the diagnostic criteria of OPMD³, some classification systems have been suggested to standardize the diagnostic criteria and, consequently, to evaluate the prognostic significance of clinical and histological parameters for this group of entities. The last World Health Organization (WHO) classification of OPMD¹ has included several entities in this group, but it is accepted that, at least in most Western populations, oral leukoplakias (OL), oral leukoerythroplakias (OLE), oral erythroplakias (OE) and actinic keratosis (or actinic cheilitis - AC) are the most common.^{1,4-11}

Due to the absence of reproducible biomarkers, the gold standard for diagnosis and establishment of prognosis and the malignant transformation rate in these conditions includes the histological analysis and grading of dysplasia in surgical specimens.^{3,8-23} The risk of these lesions progress to SCC is directly related to the presence and grading of epithelial dysplasia.^{8,10,14,19,20,22,24,25} This pattern is characterized by a “spectrum of architectural and cytological alterations caused by cumulative genetic alterations, and associated to an increased risk of progression to SCC”.¹ Nevertheless, several histological criteria have been suggested for grading of epithelial dysplasia, but none is universally accepted as definitive, as all of them carry at least some subjectivity in its analysis.^{2,26-28}

The malignant transformation rates of oral epithelial dysplasia ranges from 1% to 39%, and it is believed that the ranges are 1% to 6% for mild dysplasia, 15% to 18% for moderate dysplasias and 26 to 39% for severe dysplasias.^{1,8,15,19,29-32} The large ranges can be attributable to the differences in follow-up interval, selection biases in the study groups and individual characteristics of each individual population.^{8,33} Apart from that, the presence of oral epithelial dysplasia indicates that a lesion can show an increased risk of malignant transformation, but it is not an unequivocal predictive condition for the transformation, as some OPMD progress to SCC even after showing no epithelial dysplasia on histological analysis.^{7,8,10,19,21,22,27,34,35} Some studies have shown that OPMD showing only acanthosis and hyperkeratosis, without epithelial dysplasia, presented malignant transformation rates ranging from 3% to 30%.^{14,36,37}

The study of large series including both clinical and histological features from OPMD can be important to elucidate the profile of these conditions in a specific population. Therefore, the aim of the present study was to determine the clinical and pathological profile of a series of

OPMD diagnosed in a Brazilian southeastern population with focus on the histological criteria used for grading of epithelial dysplasia.

Material and Methods

All cases diagnosed as OL, OLE, OE and AC diagnosed in the Oral Pathology laboratory, Dental School, Rio de Janeiro State University, from 2005 to 2018 were selected. The clinical features from part of the present sample were previously published³⁸. Clinical information were retrieved from the laboratory forms and included: gender, age (in years), tobacco use, alcohol consumption, anatomical location of the lesions (lesions extending from more than one anatomical location were classified according with the central portion of the lesion), clinical aspect (white, red or white/red), size (greatest diameter of the lesion in millimeters), clinical diagnosis, and final diagnosis (OL, OLE, OE and AC). Cases presenting no sufficient clinical information, no representative specimens for histological analysis, and no HE-stained histological slides and/or paraffin blocks for additional sections (if necessary), were excluded from the final sample.

Five μm hematoxylin and eosin stained histological sections from all cases were reviewed under optical microscopy by two of the authors (ABA and FRP). When necessary additional sections were obtained from the respective paraffin blocks. Histological analysis included all microscopic criteria described in the oral epithelial dysplasia grading systems suggested by the World Health Organization (WHO)^{1,39}, Kujan et al.¹³, and Woo²⁶. After analysis of each individual criteria in all cases, oral epithelial dysplasia grading was classified according with the WHO classification (no dysplasia, mild dysplasia, moderate dysplasia and severe dysplasia) and according with the binary risk classification suggested by Kujan et al.¹³ (low- and high-risk lesions). Cases histologically diagnosed as SCC were excluded from the final sample.

All clinical and histological information were tabulated in a data bank, and descriptively and comparatively analyzed through the use of the Statistical Program for Social Sciences (SPSS, version 2.0). Qualitative variables were compared by chi-square test and quantitative variables were compared by the T test, both considering the level of significance as 5% ($p < 0.05$). The study protocol was approved by the Ethics in Research Committee, Piracicaba Dental School, University of Campinas, under the protocol number 03591018.2.0000.5418.

Results

In the study period (2005 to 2018), 11.833 specimens were submitted to histological analysis in the Oral Pathology laboratory, Dental School, Rio de Janeiro State University. From these, 953 cases (8%) attended the inclusion criteria and composed the final sample. Females and males represented, respectively, 534 (56%) and 419 (44%) cases. Mean age was 59.7 years (n=930) (ranging from 11 to 100 years, ± 13.583) and 87.5% of the patients were 41 to 80 years-old. Mean age of males (56.8 years, ranging from 11 to 91 years) was lower than mean age of females (62 years, ranging from 11 to 100 years) ($p < 0.0001$).

The most frequent anatomical location was the lower lip (185 cases, 20.1%), followed by the lateral border of the tongue (167 cases, 18.1%) and the buccal mucosa (156 cases, 16.9%) (n=922). Clinical diagnosis included mostly OL, OLE and OE (496 cases, 52.5%), followed by SCC and verrucous carcinoma (125 cases, 13.2%) and AC (109 cases, 11.5%) (n=945). Past or present tobacco use was reported by 277 patients (57.2%; n=484) and 136 patients reported past or present alcohol consumption (39.1%; n=348).

Mean size of the lesions (n=510) was 14.5 mm (ranging from 1 to 100 mm, ± 13.299) and showed no difference when comparing males (14.3 mm) and females (14.7 mm) ($p = 0.735$). Statistical significant differences were observed when comparing mean size of the lesions affecting patients aged 41 to 60 years (12.7 mm), 61 to 80 years (14.5 mm) and over 80 years (32.7 mm) (n=499) ($p < 0.0001$). In addition, lesions in the ventral tongue (19.1 mm) and buccal mucosa (19 mm) presented with a higher mean size in comparison with lesions in the lateral border of the tongue (15.3 mm) and lower lip (10.4 mm) (n=498) ($p = 0.022$).

Final diagnosis was OL in 711 cases (74.6%), AC in 145 (15.2%), OLE in 89 (9.3%) and OE in 8 (0.8%). Females were more affected by OL (61.3%), OLE (56.2%) and OE (62.5%), while males were more affected by AC (70.3%) ($p = 0.0001$). Most OL (43.4%) and OLE (43.7%), and all OE were diagnosed in patients with aging 61 to 80 years, while 52.4% of the AC were diagnosed in patients aging 41 to 60 years ($p = 0.025$). Ulceration was overall uncommon (88 cases, 9.2%), but it was more frequent in AC (14.5%) ($p = 0.05$). Patients reporting present or past tobacco use were more common in OL (61.8%) and less frequent in AC (35.1%) ($p = 0.001$). Patients reporting present or past alcohol consumption were equally found in all groups ($p = 0.839$). OL were more common in the lateral border of the tongue (20.6%), buccal mucosa (19.9%), upper gingiva/alveolar mucosa (13.4%) and lower gingiva/alveolar mucosa (12.4%). OLE were more common in the lateral border of the tongue (29.1%) and buccal mucosa (19.8%), while OE were more common in the buccal mucosa

(25%), and hard palate (25%). Distribution of the anatomical location by final diagnosis showed a statistically significant difference ($p < 0.00001$) (Table 1).

Histological analysis revealed that 401 cases (42.1%) showed no dysplasia, and 319 (33.5%), 139 (14.6%), and 94 (9.9%) showed, respectively, mild, moderate and severe dysplasia. There was no statistically significant difference when comparing grade of dysplasia by gender ($p = 0.609$). Lesions without dysplasia were predominantly white (78.3%), while red/white and exclusively red lesions were more frequent with an increase in the degree of dysplasia. Similarly, the presence of ulceration was more frequent with increasing on the grade of dysplasia ($p < 0.0001$). There was no statistically significant difference on the frequency of tobacco users by grade of dysplasia ($p = 0.438$), but the frequency of alcohol users was higher in patients with lesions presenting moderate/severe dysplasia compared to patients with lesions presenting no/mild dysplasia ($p = 0.032$) (Table 2).

Patients younger than 40 years were predominantly affected by lesions presenting no/mild dysplasia; in contrast, patients older than 61 years showed a higher frequency of moderate/intense dysplasia. In general, there was an increase in the grade of dysplasia with increasing age of the affected patients ($p = 0.048$). Lesions located in the dorsum of tongue and upper gingiva/alveolar mucosa showed the lower frequencies of moderate/severe dysplasia. On the other hand, lesions located in the ventral tongue, upper mucobuccal fold, floor of mouth, lateral border of the tongue, lower lip, hard palate and soft palate showed moderate/severe dysplasia in, respectively, 33.4%, 33.4%, 33.3%, 29.4%, 28.1%, 27.6% e 25% of the cases ($p < 0.0001$) (Table 3).

Acanthosis was less evident in AC ($p = 0.000$), hyperparakeratosis was more common in OLE, and hyperorthokeratosis was more common in AC ($p = 0.000$). Architectural parameters showed that loss of polarity of basal cells, irregular epithelial stratification, and loss of cellular cohesion, were the most common parameters observed in all groups. These 3 parameters were more frequently found in OLE and OE and, together with the presence of keratin pearls/dyskeratosis, were the 4 parameters showing statistically significant differences when comparing all groups (Table 4). With respect to cytological parameters, variation in cellular size, variation in cellular shape, variation in nuclear shape, increased nuclear-cytoplasm ratio and hyperchromatism were more frequent in OE; variation in nuclear size, variation in cellular shape, increased nuclear-cytoplasm ratio and variation in nuclear size were more frequent in AC; variation in cellular size, variation in cellular shape and increased nuclear-cytoplasm ratio were more common in OLE and OL. Distribution of all cytological parameters, except for the presence of atypical mitotic figures and increased number and size of nucleoli, showed

statistically significant differences when comparing the 4 groups (Table 4). With respect to other histological criteria, including the ones suggested by Woo ²⁶, distribution of the presence of hyperkeratosis associated with epithelial atrophy, endophytic epithelial proliferation, irregular superficial keratinization, coarse chromatin and increased cellular size, showed statistically significant differences when comparing the 4 groups (Table 4).

All cytological and histological criteria included in the WHO 2017 classification, except for abnormal superficial mitotic figures, showed statistically significant differences in distribution according with the grade of dysplasia (Table 5). In all, except for the presence of acanthosis and hyperorthokeratosis, the frequencies were higher in cases with moderate/severe dysplasia. Distribution of the additional suggested criteria showed that there were statistically significant differences in the presence of superficial normal/abnormal mitotic figures, hyperkeratosis with epithelial atrophy, basal cell hyperplasia, endophytic epithelial proliferation and increased nuclear size according with the grade of dysplasia (Table 5).

Classification according with the binary system (Kujan et al., 2006) showed that 886 cases (93%) and 67 cases (7%) were, respectively, low-risk and high-risk lesions. Low- and high-risk lesions showed statistically significant differences in the distribution of all histological parameters from the WHO 2017 classification, except for the presence of acanthosis, hyperparakeratosis and hyperorthokeratosis (Table 6). There was also statistically significant differences in the frequency of two additional criteria (presence of superficial normal/abnormal mitotic figures and hyperkeratosis with epithelial atrophy), when comparing low- and high-risk lesions (Table 6). Almost all all lesions presenting no dysplasia were classified as low-risk lesions, and that 8.2%, 12.2%, and 20.2% of the lesions presenting, respectively, mild, moderate and severe dysplasia were classified as high-risk lesions ($p < 0.0001$) (Table 7).

Discussion

OPMD are relatively common conditions with a worldwide prevalence of 0.9 to 5% according with different regions, countries and populations. ^{5,8,18,20} Most present as white, red or white/red patches or plaques and are classified in the four entities included in the present study. ^{1,10,25} Final diagnosis revealed that OL (74.6%) were the most common entities in the present sample, followed by AC (15.2%), OLE (9.3%) and OE (0.8%), and these entities represented 8% of all lesions diagnosed in the laboratory in the study period.

Although the precise risk of malignant transformation from each individual lesion is not known, some clinical and histological parameters have been associated with a higher risk

of transformation.^{2,4,10,18,20,31,40,41} Gender (females), lesions present for longer periods, non tobacco users, advanced age, size of the lesion (over 200 mm²), presence of the erythematous component, anatomical location (tongue and floor of mouth), presence of severe epithelial dysplasia, presence of human papillomavirus (HPV) subtype 16, DNA aneuploidy, and loss of tissue heterozygosity have been all suggested as important risk factors for malignant transformation in OPMD.^{8-10,25,31,42}

OL are the most common OPMD in Western populations, with a prevalence of 1% to 6.2%, affecting preferentially the buccal mucosa, tongue, floor of mouth, gingiva and palate, and showing malignant transformation rates ranging from 0.13% to 36.4%.^{4-9,11,12,16,17,19,20,25,29,42-49} OE are much less common than OL, with prevalences ranging from 0.01% e 0.83%, but present a much higher rate of malignant transformation, showing a predilection for the buccal mucosa, floor of mouth and soft palate.^{1,3-5,9,11,20,35,42,47,48} OLE present a higher risk of malignant transformation, ranging from 13% to 25%, when compared to OL.^{6,9,10,11,19,42,47,48,50} OL, OLE and OE affect preferentially males over 50 years of age.^{6,10,11,14,18,20,22,29,32,43,44} The present sample showed that mean age of the patients was 59.7 years, which is in accordance with most studies including Western populations.^{29,36,43,44} It has been previously demonstrated that the risk of developing an OPMD increases with age.^{6,18} The present results showed an increase in the grade of dysplasia with increasing age of the patients, as also previously demonstrated by Lumerman et al.²⁹ and reinforcing the possible evolutive pattern of some lesions, as older patients show higher malignant transformation rates in OPMD.^{25,31,51} The anatomical distribution of the OPMD in the present study was in accordance with the literature. OPMD present in some specific anatomical locations, such as the lateral border of the tongue, floor of mouth and palate, are more prone to show epithelial dysplasia and, consequently, are associated with a higher risk of malignant transformation.^{10,12,17,19,31,32,38,49}

Females outnumbered males in our study probably due to the increasing number of females exposed to tobacco use and alcohol consumption and to the greater awareness of health care in females.³⁸ This female predominance has been shown by other studies.^{24,31,45} It is important to call attention, however, that AC are still more common in males, as shown by the present results, probably due to the higher association of males to the conditions associated with its development, such as sun-exposed job activities.^{5,20} AC show a variable prevalence (ranging from 2% to 20%), mostly affects the lower lip, and are associated with malignant transformation rates that range from 6 to 10%.^{5,11,20}

Clinical diagnosis submitted with the specimens to the laboratory help in establishing final diagnosis in this specific group of diseases, as they can resemble several other oral reactive

and inflammatory conditions.^{7,34} OL, OLE and OE represented 52.5% of the clinical diagnosis in this sample, followed by SCC/verrucous carcinoma (13.2%) and actinic cheilitis (11.5%), showing a satisfactory relationship with final diagnosis.

Mean size of the lesions in the present sample was 14.5 mm and females presented slightly larger lesions. Our results also revealed that increased mean size of the lesions was directly associated with advancing age, and that lesions in ventral tongue and buccal mucosa were larger in comparison to lesions in the lateral border of the tongue and lower lip. Holmstrup et al.⁵² showed that lesions larger than 200 mm² were associated with a 5.4x higher rate of malignant transformation and Brouns et al.⁴⁵ showed that a diameter greater than 40 mm was a significant predictive risk factor for malignant transformation.^{45,52} Size of the lesions has been considered an important risk factor for malignant transformation in OL, OLE and EO.^{10,25}

Although it is widely accepted that tobacco use and alcohol consumption are the main risk factors for OL, OLE and EO^{4,6,9-11,20,25,28,35,42,53}, this relationship is still not completely established.^{16,46} The present results support the evidences that OL is more frequent in tobacco users and that alcohol consumption seems to be an independent risk factor.^{10,11,17} Villa & Gohel¹⁸ observed that tobacco users had a 2-fold risk of developing an OPMD, but alcohol consumption was not associated with an increased risk. The present results did not show a relationship of tobacco use and grade of dysplasia, but patients reporting alcohol consumption were more frequently found in the group of moderate/severe dysplasia.

The present results showed that most cases presented no dysplasia (42.1%), while 33.5%, 14.6% and 9.9% showed, respectively, mild, moderate and severe dysplasia, values close to the results reported by Woo et al.³². Most lesions presenting no dysplasia were OL, while with increasing grade of dysplasia the frequency of OLE and OE also increased. This is in accordance with other studies that have shown that the grade of dysplasia increases with the presence of the red component in OPMD.^{20,29,44} The presence of ulceration was uncommon in the present sample and was more frequently found in AC. However, ulceration was associated with increasing in the grade of dysplasia, in accordance with the results of Lumerman et al.²⁹. In contrast, Jaber et al.⁴⁴ showed that ulcerated cases showed mild (77.8%) or moderate (22.2%) dysplasia.

OPMD can show variable degrees of acanthosis, hyperorthokeratosis and hyperparakeratosis.^{3,6,9,54} The present results showed that the keratin layer type can represent an important diagnostic aspect, as hyperparakeratosis was more commonly associated with moderate and severe dysplasias. Epithelial thickness can be also associated with anatomical location of the lesions and verrucous lesions seem to present a higher risk of malignant

transformation.⁵⁵ Therefore, verrucous hyperplasia, a growth pattern that shows exophytic projections of the parakeratinized stratified squamous epithelium, with or without dysplasia, seems to deserve special attention.²⁷ Up to now, there are no well-established histological criteria to define verrucous hyperplasia or keratosis, particularly when being part of the proliferative verrucous leukoplakia (PVL) spectrum. This is an important point as early lesions in PVL can be indistinguishable of benign keratosis and OL presenting no dysplasia, but their progression shows an irregular and verrucous pattern associated with keratosis.⁷

In the attempt to standardize a worldwide accepted classification for oral epithelial dysplasia that could be reproducible and could have the ability of predicting malignant transformation, the WHO have recommended a three-graded classification system based on architectural and cytological parameters.^{1,39} In this system, mild dysplasias exhibit alterations confined to the lower third of the surface epithelium (basal and parabasal layers), moderate dysplasia up to the middle third, and severe dysplasia when extending up to the superficial epithelial layers (synonym of carcinoma *in situ*).^{1,39} These systems have, however, some limitations such as: requesting some degree of experience from the oral pathologist; carrying some subjectivity in evaluating all criteria (decreasing the intra- and inter-observer agreement); and dividing the epithelium in thirds or layers to classify a progressive and continuous process with no defined biological limit.^{7-10,13,22,34,48,55,56}

The most common histological criteria for grading epithelial dysplasia observed in the present sample were increased number and size of nucleoli, loss of polarity of the basal cells, variations in nuclear and cellular size and shape, increased nuclear/cytoplasm ratio, and irregular epithelial stratification. All studied WHO histological parameters were more common as grades of dysplasia increased. Woo²⁶ suggested that other histological criteria could be relevant for diagnosis and classification of dysplasias, especially those with minimal evidence of dysplasia, such as verrucous and papillary lesions, some of them associated with early PVL. Another interesting pattern is the presence of intercalated areas of acanthosis and epithelial atrophy associated with irregular areas of hyperparakeratosis in some OPMD, which can be an important aid in differentiating them from reactive hyperkeratosis, as the latter usually show regular acanthosis.⁴⁸ The present results showed that some criteria suggested by Woo^{26,48}, such as the presence of normal and abnormal superficial mitotic figures, endophytic epithelial proliferation, and increased nuclear size (the latter excluded from the WHO 2017 classification) increased with the grade of dysplasia. This would suggest that these criteria can be important histological parameters that can be also used as auxiliary tools in diagnosing oral epithelial dysplasia. On the other hand, hyperkeratosis with epithelial atrophy and basal cell hyperplasia

did not show an increase in frequency as the grades of dysplasia increased. Loss of polarity of the basal cells can be also an useful histological parameter in signalling evolution of oral epithelial dysplasia to SCC.^{57,58} There are, however, some histological criteria used for grading of oral epithelial dysplasia that are very difficult to interpret and classify (e.g., increased nuclear/cytoplasm ratio) and, for this reason, subjected to higher inter-observer variability, limiting, at least partially, their use.⁵⁷

Kujan et al.¹³ using the same morphological criteria of the WHO 2005 classification suggested a binary system for oral epithelial dysplasias. This system divides the lesions in high-risk and low-risk, based on the presence of at least 4 architectural and 5 cytological alterations in high-risk lesions, and fewer than that in low-risk lesions. This system showed 85% of sensitivity and 80% of specificity in predicting malignant transformation, and higher intra- and inter-observer agreement, suggesting its adjunctive role to the WHO classification.^{10,13,25,59} However, it seems that in this system most moderate dysplasias are classified as low-risk lesions, similarly to the results from the present study, what can result in underscoring in some cases.¹ Classification of the present sample by the binary system showed that only 7% of all lesions were classified as high-risk, in contrast to the original paper (51.5% as high-risk lesions).¹³ This number of high-risk lesions is close to the number of lesions presenting severe dysplasia (9.9%), however, it should be considered that there were some changes in the criteria from the WHO 2005 and 2017 classifications of oral epithelial dysplasia. We also observed an increased frequency of all histological criteria in high-risk lesions in comparison to low-risk lesions. Loss of polarity of basal cells, drop-shaped epithelial projections, presence of atypical mitosis, abnormal variation in nuclear shape, abnormal variation in cellular size and shape, and increased nucleoli number and size also showed a predictive value.⁵⁹ In the present results, the number of high-risk lesions increased with the increasing in grades of dysplasia. However, the results showed that there were lesions presenting moderate (most of them) and severe dysplasia classified as low-risk lesions, reinforcing that there is a group of OPMD that should be possibly influenced by other clinical, histological and molecular features, apart from the grade of dysplasia. Recently, a modified version of the WHO 2017 classification criteria was suggested, including some additional criteria, such as verrucous/papillary architecture, and epithelial atrophy and hyperkeratosis intercalated by zones of normal epithelium, but they need further attention in future studies.⁴⁸ The term “keratosis of uncertain significance” has been suggested to name OL with acanthosis or epithelial atrophy, parakeratosis, minimal cytologia atypia, discrete papillomatosis, and alternating segments or normal and keratinized epithelium, with

no evidences of epithelial dysplasia and no evidences of traumatic irritative origin, as these can possibly represent very early dysplastic lesions.⁴⁸

The present study has some methodological limitations, due to its retrospective design, but it allows the inclusion of a significant number of cases for analysis. All cases were derived from the same Oral Pathology laboratory and were reviewed by the same pathologists, reducing the risk of inter-observer subjective differences. Another limitation is that, as a retrospective sample derived from laboratory records, it is not possible to obtain detailed follow-up information from most patients. Apart from these general limitations, the analysis of the histological parameters *per se* is a challenging issue, as they all are classified as absent or present, and defining the classification when the features are discrete and/or focal is a hard task. Most studies on OPMD focus on the risk factors that can predict the malignant transformation of the lesions and most have shown that the grade of dysplasia is an important predictive factor. Few studies have, however, evaluated the importance of the diagnostic parameters from the oral epithelial dysplasias and their relationship to the classifications and the clinical parameters. We believe that the results of the present study could contribute to understand the relevance and the difficulties involved in the analysis of the histological features and, consequently establishing the grade of dysplasia in OPMD. Further prospective studies are encouraged to use the present information to improve the classification of oral epithelial dysplasia and to define predictive histological risk factors for malignant transformation in OPMD.

Acknowledgements

This work was supported by FAPERJ, Rio de Janeiro, Brazil.

References

1. A.K. El-Naggar, J.K.C. Chan, J.R. Grandis, T. Takata, P.J. Slootweg (Eds): WHO Classification of Head and Neck Tumours (4th edition). IARC: Lyon 2017. p. 112–5.
2. N.G. Nikitakis. Special focus issue on potentially premalignant oral epithelial lesions: introduction and perspective. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):575-576. doi: 10.1016/j.oooo.2018.03.013.
3. I.R. Kramer, R.B. Lucas, J.J. Pindborg, L.H. Sobin. Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1978 Oct;46(4):518-39.
4. A. Villa, C. Villa, S. Abati. Oral cancer and oral erythroplakia: an update and implication for clinicians. *Aust Dent J.* 2011 Sep;56(3):253-6. doi: 10.1111/j.1834-7819.2011.01337.x.
5. A.M. Ferreira, E.E. de Souza Lucena, T.C. de Oliveira, É. da Silveira, P.T. de Oliveira, K.C. de Lima. Prevalence and factors associated with oral potentially malignant disorders in Brazil's rural workers. *Oral Dis.* 2016 Sep;22(6):536-42. doi: 10.1111/odi.12488.
6. D. Ganesh, P. Sreenivasan, J. Öhman, M. Wallström, P.H. Braz-Silva, D. Giglio, et al. Potentially malignant oral disorders and cancer transformation. *Anticancer Res.* 2018 Jun;38(6):3223-3229. doi: 10.21873/anticancer.12587.
7. S. Müller. Oral epithelial dysplasia, atypical verrucous lesions and oral potentially malignant disorders: focus on histopathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):591-602. doi: 10.1016/j.oooo.2018.02.012.
8. K. Ranganathan, L. Kavitha. Oral epithelial dysplasia: classifications and clinical relevance in risk assessment of oral potentially malignant disorders. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019 Jan-Apr;23(1):19-27. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_13_19.
9. A.B. Soares, K. Perschbacher, B. Perez-Ordonez. Oral potentially malignant disorders. *Diagn Histopathol* 2018 May;24(5):161-65. doi: 10.1016/j.mpdhp.2018.03.005.
10. P.M. Speight, S.A. Khurram, O. Kujan. Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):612-627. doi: 10.1016/j.oooo.2017.12.011.
11. S. Warnakulasuriya. Clinical features and presentation of oral potentially malignant disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):582-590. doi: 10.1016/j.oooo.2018.03.011.
12. C.A. Waldron, W.G. Shafer. Leukoplakia revisited. A clinicopathologic study 3256 oral leukoplakias. *Cancer.* 1975 Oct;36(4):1386-92. doi: 10.1002/1097-0142(197510)36:4<1386::aid-cnrcr2820360430>3.0.co;2-7.

13. O. Kujan, R.J. Oliver, A. Khattab, S.A. Roberts, N. Thakker, P. Sloan. Evaluation of a new binary system of grading oral epithelial dysplasia for prediction of malignant transformation. *Oral Oncol.* 2006 Nov;42(10):987-93. doi: 10.1016/j.oraloncology.2005.12.014.
14. S.S. Hsue, W.C. Wang, C.H. Chen, C.C. Lin, Y.K. Chen, L.M. Lin. Malignant transformation in 1458 patients with potentially malignant oral mucosal disorders: a follow-up study based in a Taiwanese hospital. *J Oral Pathol Med.* 2007 Jan;36(1):25-9. doi: 10.1111/j.1600-0714.2006.00491.x.
15. H.M. Mehanna, T. Rattay, J. Smith, C.C. McConkey. Treatment and follow-up of oral dysplasia - a systematic review and meta-analysis. *Head Neck.* 2009 Dec;31(12):1600-9. doi: 10.1002/hed.21131.
16. P.G. Arduino, J. Bagan, A.K. El-Naggar, M. Carrozzo. Urban legends series: oral leukoplakia. *Oral Dis.* 2013 Oct;19(7):642-59. doi: 10.1111/odi.12065.
17. F. Dost, K.A. Lê Cao, P.J. Ford, C.S. Farah. A retrospective analysis of clinical features of oral malignant and potentially malignant disorders with and without oral epithelial dysplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013 Dec;116(6):725-33. doi: 10.1016/j.oooo.2013.08.005.
18. A. Villa, A. Gohel. Oral potentially malignant disorders in a large dental population. *J Appl Oral Sci.* 2014 Nov-Dec;22(6):473-6. doi: 10.1590/1678-775720140254.
19. M. Awadallah, M. Idle, K. Patel, D. Kademani. Management update of potentially premalignant oral epithelial lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):628-636. doi: 10.1016/j.oooo.2018.03.010.
20. F.W. Mello, A.F.P. Miguel, K.L. Dutra, A.L. Porporatti, S. Warnakulasuriya, E.N.S. Guerra, et al. Prevalence of oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis. *J Oral Pathol Med.* 2018 Aug;47(7):633-640. doi: 10.1111/jop.12726.
21. N.G. Nikitakis, M. Pentenero, M. Georgaki, C.F. Poh, D.E. Peterson, P. Edwards, et al. Molecular markers associated with development and progression of potentially premalignant oral epithelial lesions: Current knowledge and future implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):650-669. doi: 10.1016/j.oooo.2018.03.012.
22. E.C. Yang, M.T. Tan, R.A. Schwarz, R.R. Richards-Kortum, A.M. Gillenwater, N. Vigneswaran. Noninvasive diagnostic adjuncts for the evaluation of potentially premalignant oral epithelial lesions: current limitations and future directions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):670-681. doi: 10.1016/j.oooo.2018.02.020.
23. T. Yap, A. Celentano, C. Seers, M.J. McCullough, C.S. Farah. Molecular diagnostics in

- oral cancer and oral potentially malignant disorders-A clinician's guide. *J Oral Pathol Med*. 2020 Jan;49(1):1-8. doi: 10.1111/jop.12920.
24. W. Liu, Z.X. Bao, L.J. Shi, G.Y. Tang, Z.T. Zhou. Malignant transformation of oral epithelial dysplasia: clinicopathological risk factors and outcome analysis in a retrospective cohort of 138 cases. *Histopathology*. 2011 Oct;59(4):733-40. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.03938.x.
25. S. Warnakulasuriya, A. Ariyawardana. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies. *J Oral Pathol Med*. 2016 Mar;45(3):155-66. doi: 10.1111/jop.12339.
26. S.B. Woo. *Oral Pathology: a Comprehensive Atlas and Text*. Philadelphia: Elsevier; 2012. p. 230-41.
27. W.M. Tilakaratne, P.R. Jayasooriya, N.S. Jayasuriya, R.K. de Silva. Oral epithelial dysplasia: Causes, quantification, prognosis, and management challenges. *Periodontol* 2000. 2019 Jun;80(1):126-147. doi:10.1111/prd.12259
28. M. Ikeda, K. Shima, T. Kondo, I. Semba. Atypical immunohistochemical patterns can complement the histopathological diagnosis of oral premalignant lesions. *J Oral Biosci*. 2020 Mar;62(1):93-98. doi: 10.1016/j.job.2020.01.003.
29. H. Lumerman, P. Freedman, S. Kerpel. Oral epithelial dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1995 Mar;79(3):321-9. doi: 10.1016/s1079-2104(05)80226-4.
30. P.S. Ho, P.L. Chen, S. Warnakulasuriya, T.Y. Shieh, Y.K. Chen, I.Y. Huang. Malignant transformation of oral potentially malignant disorders in males: a retrospective cohort study. *BMC Cancer*. 2009 Jul 30;9:260. doi: 10.1186/1471-2407-9-260.
31. S. Warnakulasuriya, T. Kovacevic, P. Madden, V.H. Coupland, M. Sperandio, E. Odell, et al. Factors predicting malignant transformation in oral potentially malignant disorders among patients accrued over a 10-year period in South East England. *J Oral Pathol Med*. 2011 Oct;40(9):677-83. doi:10.1111/j.1600-0714.2011.01054.x.
32. S.B. Woo, R.L. Grammer, M.A. Lerman. Keratosis of unknown significance and leukoplakia: a preliminary study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014 Dec;118(6):713-24. doi: 10.1016/j.oooo.2014.09.016.
33. T. Izumo. Oral premalignant lesions: from the pathological viewpoint. *Int J Clin Oncol*. 2011 Feb;16(1):15-26. doi: 10.1007/s10147-010-0169-z.
34. M.W. Lingen, A. Pinto, R.A. Mendes, R. Franchini, R. Czerninski, W.M. Tilakaratne, et al. Genetics/epigenetics of oral premalignancy: current status and future research. *Oral Dis*.

- 2011 Apr;17 Suppl 1:7-22. doi: 10.1111/j.1601-0825.2011.01789.x.
35. P. Holmstrup. Oral erythroplakia-What is it? *Oral Dis.* 2018 Mar;24(1-2):138-143. doi: 10.1111/odi.12709.
36. S. Silverman, M. Gorsky, F. Lozada. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. *Cancer.* 1984 Feb 1;53(3):563-8. doi: 10.1002/1097-0142(19840201)53:3<563::aid-cnrcr2820530332>3.0.co;2-f.
37. K.P. Schepman, E.H. van der Meij, L.E. Smeele, I. van der Waal. Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from The Netherlands. *Oral Oncol.* 1998 Jul;34(4):270-5.
38. F.R. Pires, M.E. Barreto, J.G. Nunes, N.S. Carneiro, A.B. Azevedo, T.C. dos Santos. Oral potentially malignant disorders: clinical-pathological study of 684 cases diagnosed in a Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020 Jan 1;25(1):e84-e88. doi: 10.4317/medoral.23197.
39. L. Barnes, J.W. Eveson, P. Reichart, D. Sidranski (Eds): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. IARC Press: Lyon 2005. p. 177-81.
40. S. Warnakulasuriya, N.W. Johnson, I. van der Waal. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med.* 2007 Nov;36(10):575-80. doi: 10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x.
41. I. van der Waal. Oral leukoplakia, the ongoing discussion on definition and terminology. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2015 Nov 1;20(6):e685-92. doi: 10.4317/medoral.21007.
42. I. van der Waal. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; present concepts of management. *Oral Oncol.* 2010 Jun;46(6):423-5. doi: 10.1016/j.oraloncology.2010.02.016.
43. D.J. Brothwell, D.W. Lewis, G. Bradley, I. Leong, R.C. Jordan, D. Mock, et al. Observer agreement in the grading of oral epithelial dysplasia. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2003 Aug;31(4):300-5. doi: 10.1034/j.1600-0528.2003.00013.x.
44. M.A. Jaber, S.R. Porter, P. Speight, J.W. Eveson, C. Scully. Oral epithelial dysplasia: clinical characteristics of western European residents. *Oral Oncol.* 2003 Sep;39(6):589-596. doi:10.1016/s1368-8375(03)00045-9
45. E. Brouns, J. Baart, Kh. Karagozoglu, I. Aartman, E. Bloemena, I. van der Waal. Malignant transformation of oral leukoplakia in a well-defined cohort of 144 patients. *Oral Dis.* 2014 Apr;20(3):e19-24. doi: 10.1111/odi.12095.
46. S. Porter, L.A. Gueiros, J.C. Leão, S. Fedele. Risk factors and etiopathogenesis of

- potentially premalignant oral epithelial lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):603-611. doi: 10.1016/j.oooo.2018.03.008.
47. I. van der Waal. Historical perspective and nomenclature of potentially malignant or potentially premalignant oral epithelial lesions with emphasis on leukoplakia-some suggestions for modifications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):577-581. doi: 10.1016/j.oooo.2017.11.023.
48. S.B. Woo. Oral Epithelial Dysplasia and Premalignancy. *Head Neck Pathol.* 2019 Sep;13(3):423-439. doi: 10.1007/s12105-019-01020-6.
49. A.C Pinto, J. Caramês, H. Francisco, A. Chen, A.M. Azul, D. Marques. Malignant transformation rate of oral leukoplakia-systematic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2020 Jun;129(6):600-611.e2. doi: 10.1016/j.oooo.2020.02.017.
50. I. Van der Waal, T. Axéll. Oral leukoplakia: a proposal for uniform reporting. *Oral Oncol.* 2002 Sep;38(6):521-6. doi: 10.1016/S1368-8375(01)00125-7.
51. M.A. Pogrel. Sublingual keratosis and malignant transformation. *J Oral Pathol.* 1979 Jun;8(3):176-8. doi: 10.1111/j.1600-0714.1979.tb01824.x.
52. P. Holmstrup, P. Vedtofte, J. Reibel, K. Stoltze. Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. *Oral Oncol.* 2006 May;42(5):461-474. doi:10.1016/j.oraloncology.2005.08.011
53. S. Silverman, K. Bhargava, L.W. Smith, A.M. Malaowalla. Malignant transformation and natural history of oral leukoplakia in 57,518 industrial workers of Gujarat,India. *Cancer.* 1976 Oct;38(4):1790-5. doi: 10.1002/1097-0142(197610)38:4<1790::aid-cncr2820380456>3.0.co;2-i.
54. S. Silverman, W.H. Ware. Comparisons of histologic, cytologic, and clinical findings in intraoral leukoplakia and associated carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1960 Apr;13:412-22. doi: 10.1016/0030-4220(60)90343-1
55. W.M. Tilakaratne, M. Sherriff, P.R. Morgan, E.W. Odell. Grading oral epithelial dysplasia: analysis of individual features. *J Oral Pathol Med.* 2011 Aug;40(7):533-40. doi: 10.1111/j.1600-0714.2011.01033.x.
56. C.G. Alvarado, S. Maruyama, J. Cheng, H. Ida-Yonemochi, T. Kobayashi, M. Yamazaki, et al. Nuclear translocation of β -catenin synchronized with loss of E-cadherin in oral epithelial dysplasia with a characteristic two-phase appearance. *Histopathology.* 2011 Aug;59(2):283-91. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.03929.x.
57. T. Okamura, T. Izumo, H. Yagishita, T. Mori, K. Sakamoto, K. Harada. Disordered arrangements of basal cells as a prognostic factor for oral epithelial dysplasia: a morphometric

study of 96 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016;122(3):355-361. doi:10.1016/j.oooo.2016.05.005

58. R. Nag, R. Kumar Das. Analysis of images for detection of oral epithelial dysplasia: A review. *Oral Oncol.* 2018 Mar;78:8-15. doi: 10.1016/j.oraloncology.2018.01.003

59. O. Kujan, A. Khattab, R.J. Oliver, S.A. Roberts, N. Thakker, P. Sloan. Why oral histopathology suffers inter-observer variability on grading oral epithelial dysplasia: an attempt to understand the sources of variation. *Oral Oncol.* 2007 Mar;43(3):224-31. doi: 10.1016/j.oraloncology.2006.03.009.

Tables

Table 1. Distribution of clinical parameters according with final diagnosis.

Parameter	Final diagnosis				Total	P
	Leukoplakia	Leukoerythroplakia	Erythroplakia	Actinic cheilitis		
Gender (n=953)						
Males	275 (38.7%)	39 (43.8%)	3 (37.5%)	102 (70.3%)	419 (44.0%)	.0001
Females	436 (61.3%)	50 (56.2%)	5 (62.5%)	43 (29.7%)	534 (56.0%)	
Age at diagnosis (n=930)						
0 – 20 years	6 (0.9%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (0.6%)	.025
21 – 40 years	47 (6.8%)	8 (9.2%)	0 (0%)	6 (4.2%)	61 (6.6%)	
41 – 60 years	298 (43.1%)	34 (39.1%)	0 (0%)	75 (52.4%)	407 (43.8%)	
61 – 80 years	300 (43.4%)	38 (43.7%)	8 (100%)	60 (42.0%)	406 (43.7%)	
> 80 years	41 (5.9%)	7 (8.0%)	0 (0%)	2 (1.4%)	50 (5.4%)	
Ulceration (n=953)						
No	656 (92.3%)	78 (87.6%)	7 (87.5%)	124 (85.5%)	865 (90.8%)	.05
Yes	55 (7.7%)	11 (12.4%)	1 (12.5%)	21 (14.5%)	88 (9.2%)	
Tobacco use (n=484)						
Yes (present or past)	235 (61.8%)	21 (46.7%)	1 (50%)	20 (35.1%)	277 (57.2%)	.001
No	145 (38.2%)	24 (53.3%)	1 (50%)	37 (64.9%)	207 (42.8%)	
Alcohol consumption (n=348)						
Yes (present or past)	103 (39.3%)	10 (32.3%)	1 (50%)	22 (41.5%)	136 (39.1%)	.839
No	159 (60.7%)	21 (67.7%)	1 (50%)	31 (58.5%)	212 (60.9%)	
Anatomical location (n=922)						
Lateral border of the tongue	142 (20.6%)	25 (29.1%)	0 (0%)	0 (0%)	167 (18.1%)	< 0.00001
Ventral tongue	27 (3.9%)	3 (3.5%)	0 (0%)	0 (0%)	30 (3.3%)	
Dorsum of tongue	40 (5.8%)	1 (1.2%)	1 (12.5%)	0 (0%)	42 (4.6%)	
Floor of mouth	32 (4.7%)	6 (7.0%)	1 (12.5%)	0 (0%)	39 (4.2%)	
Lower gingiva/alveolar /mucosa	85 (12.4%)	3 (3.5%)	1 (12.5%)	0 (0%)	89 (9.7%)	
Upper gingiva/alveolar /mucosa	92 (13.4%)	5 (5.8%)	0 (0%)	0 (0%)	97 (10.5%)	
Buccal mucosa	137 (19.9%)	17 (19.8%)	2 (25.0%)	0 (0%)	156 (16.9%)	
Lower lip	43 (6.2%)	2 (2.3%)	0 (0%)	140 (100%)	185 (20.1%)	
Upper lip	5 (0.7%)	1 (1.2%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (0.7%)	
Lower mucobuccal fold	2 (0.3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0.2%)	
Upper mucobuccal fold	5 (0.7%)	1 (1.2%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (0.7%)	
Soft palate	44 (6.4%)	11 (12.8%)	1 (12.5%)	0 (0%)	56 (6.1%)	
Hard palate	34 (4.9%)	11 (12.8%)	2 (25.0%)	0 (0%)	47 (5.1%)	

Table 2. Distribution of the clinical parameters by grade of dysplasia according with the World Health Organization. ¹

Parameter	Grade of dysplasia				Total	p
	No dysplasia	Mild dysplasia	Moderate dysplasia	Severe dysplasia		
Gender (n=953)						
Males	170 (42.4%)	139 (43.6%)	68 (48.9%)	42 (44.7%)	419 (44.0%)	.609
Females	231 (57.6%)	180 (56.4%)	71 (51.1%)	52 (55.3%)	534 (56.0%)	
Clinical aspect (n=930)						
Red/White	64 (16.2%)	67 (21.7%)	56 (41.2%)	44 (49.4%)	231 (24.8%)	< 0.0001
White	310 (78.3%)	222 (71.8%)	63 (46.3%)	32 (36.0%)	627 (67.4%)	
Red	6 (1.5%)	7 (2.3%)	8 (5.9%)	7 (7.9%)	28 (3.0%)	
Ulcerated	5 (1.3%)	4 (1.3%)	1 (0.7%)	3 (3.4%)	13 (1.4%)	
Others	11 (2.8%)	9 (2.9%)	8 (5.9%)	3 (3.4%)	31 (3.3%)	
Ulceration						
No	380 (94.8%)	295 (92.5%)	122 (87.8%)	68 (72.3%)	865 (90.8%)	< 0.0001
Yes	21 (5.2%)	24 (7.5%)	17 (12.2%)	26 (27.7%)	88 (9.2%)	
Tobacco use (n=484)						
Yes (present or past)	118 (58.4%)	95 (60.5%)	38 (52.1%)	26 (50%)	277 (57.2%)	.438
No	84 (41.6%)	62 (39.5%)	35 (47.9%)	26 (50%)	207 (42.8%)	
Alcohol consumption (n=348)						
Yes (present or past)	56 (39.7%)	29 (28.7%)	25 (44.6%)	26 (52%)	136 (39.1%)	.032
No	85 (60.3%)	72 (71.3%)	31 (55.4%)	24 (48%)	212 (60.9%)	

Table 3. Distribution of the age of the affected patients and anatomical location of the lesions by grade of dysplasia according with the World Health Organization. ¹

Parameter	Grade of dysplasia				Total	p
	No dysplasia	Mild dysplasia	Moderate dysplasia	Severe dysplasia		
Age at diagnosis (n=930)						
0 – 20 anos	5 (83.3%)	1 (16.7%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (0.6%)	.048
21 – 40 anos	28 (45.9%)	25 (41%)	5 (8.2%)	3 (4.9%)	61 (6.6%)	
41 – 60 anos	176 (43.2%)	143 (35.1%)	58 (14.3%)	30 (7.4%)	407 (43.8%)	
61 – 80 anos	162 (39.9%)	127 (31.3%)	63 (15.5%)	54 (13.3%)	406 (43.7%)	
> 80 anos	16 (32%)	17 (34%)	11 (22%)	6 (12%)	50 (5.4%)	
Anatomical location (n=922)						
Lateral border of the tongue	53 (31.7%)	65 (38.9%)	29 (17.4%)	20 (12%)	167 (18.1%)	< 0.00001
Ventral tongue	9 (30%)	11 (36.7%)	5 (16.7%)	5 (16.7%)	30 (3.3%)	
Dorsum of tongue	29 (69%)	10 (23.8%)	3 (7.1%)	0 (0%)	42 (4.6%)	
Floor of mouth	14 (35.9%)	12 (30.8%)	8 (20.5%)	5 (12.8%)	39 (4.2%)	
Lower gingiva/alveolar /mucosa	51 (57.3%)	18 (20.2%)	12 (13.5%)	8 (9%)	89 (9.7%)	
Upper gingiva/alveolar /mucosa	59 (60.8%)	30 (30.9%)	5 (5.2%)	3 (3.1%)	97 (10.5%)	
Buccal mucosa	79 (50.6%)	43 (27.6%)	19 (12.2%)	15 (9.6%)	156 (16.9%)	
Lower lip	50 (27%)	83 (44.9%)	33 (17.8%)	19 (10.3%)	185 (20.1%)	
Upper lip	2 (33.3%)	3 (50%)	0 (0%)	1 (16.7%)	6 (0.7%)	
Lower mucobuccal fold	1 (50%)	1 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0.2%)	
Upper mucobuccal fold	1 (16.7%)	3 (50%)	1 (16.7%)	1 (16.7%)	6 (0.7%)	
Soft palate	19 (33.9%)	23 (41.1%)	5 (8.9%)	9 (16.1%)	56 (6.1%)	
Hard palate	22 (46.8%)	12 (25.5%)	9 (19.1%)	4 (8.5%)	47 (5.1%)	

Table 4. Distribution of the histological parameters by final diagnosis.

Histological criteria	Final diagnosis				Total	p
	Leukoplakia	Leukoerythroplakia	Erythroplakia	Actinic cheilitis		
Acanthosis	609 (85.7%)	77 (86.5%)	8 (100%)	82 (56.6%)	776 (81.4%)	.000
Hyperparakeratosis	337 (47.4%)	55 (61.8%)	3 (37.5%)	31 (21.4%)	426 (44.7%)	.000
Hyperorthokeratosis	340 (47.8%)	19 (21.3%)	0 (0%)	107 (73.8%)	466 (48.9%)	.000
WHO criteria (2017)						
Architectural criteria						
Irregular epithelial stratification	380 (53.4%)	68 (76.4%)	7 (87.5%)	103 (71%)	558 (58.6%)	.000
Loss of polarity of basal cells	410 (57.7%)	72 (80.9%)	7 (87.5%)	112 (77.2%)	601 (63.1%)	.000
Drop-shaped epithelial projections	34 (4.8%)	5 (5.6%)	1 (12.5%)	13 (9%)	53 (5.6%)	.191
Increased number of mitotic figures	46 (6.5%)	8 (9%)	1 (12.5%)	5 (3.4%)	60 (6.3%)	.302
Abnormal superficial mitotic figures	7 (1%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.7%)	8 (0.8%)	.792
Early cellular keratinization	65 (9.1%)	9 (10.1%)	2 (25%)	10 (6.9%)	86 (9%)	.330
Keratin pearls/dyskeratosis	148 (20.8%)	32 (36%)	2 (25%)	36 (24.8%)	218 (22.9%)	.014
Loss of cellular cohesion	255 (35.9%)	50 (56.2%)	5 (62.5%)	56 (38.6%)	366 (38.4%)	.001
Cytological criteria						
Variation in nuclear size	355 (49.9%)	62 (69.7%)	5 (62.5%)	103 (71%)	525 (55.1%)	.000
Variation in nuclear shape	368 (51.8%)	62 (69.7%)	6 (75%)	98 (67.6%)	534 (56%)	.000
Variation in cellular size	390 (54.9%)	63 (70.8%)	7 (87.5%)	110 (75.9%)	570 (59.8%)	.000
Variation in cellular shape	382 (53.7%)	63 (70.8%)	6 (75%)	109 (75.2%)	560 (58.8%)	.000
Increased nuclear-cytoplasm ratio	378 (53.2%)	65 (73%)	6 (75%)	106 (73.1%)	555 (58.2%)	.000
Atypical mitotic figures	58 (8.2%)	6 (6.7%)	0 (0%)	10 (6.9%)	74 (7.8%)	.775
Increased nucleoli number and size	532 (74.8%)	74 (83.1%)	5 (62.5%)	112 (77.2%)	723 (75.9%)	.269
Hyperchromatism	136 (19.1%)	28 (31.5%)	6 (75%)	28 (19.3%)	198 (20.8%)	.000
Other criteria (including Woo, 2012)						
Superficial normal/abnormal mitotic figures	117 (16.5%)	18 (20.2%)	3 (37.5%)	16 (11%)	154 (16.2%)	.085
Hyperkeratosis with epithelial atrophy	63 (8.9%)	7 (7.9%)	0 (0%)	31 (21.4%)	101 (10.6%)	.000
Basal cell hyperplasia	259 (36.4%)	28 (31.5%)	3 (37.5%)	37 (25.5%)	327 (34.3%)	.080
Endophytic epithelial proliferation	32 (4.5%)	5 (5.6%)	2 (25%)	0 (0%)	39 (4.1%)	.001
Irregular superficial keratinization	22 (3.1%)	7 (7.9%)	0 (0%)	1 (0.7%)	30 (3.1%)	.022
Verrucous/papillary superficial proliferation	134 (18.8%)	14 (15.7%)	2 (25%)	3 (2.1%)	153 (16.1%)	.000
Coarse chromatin	1 (0.1%)	2 (2.2%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (0.3%)	.008
* Increased nuclear size	17 (2.4%)	5 (5.6%)	0 (0%)	11 (7.6%)	33 (3.5%)	.010

* Included in the WHO classification 2005, but removed from the 2017 classification.

Table 5. Distribution of the histological parameters by the grade of dysplasia according with the World Health Organization 2017 classification. ¹

Histological criteria	Grade of dysplasia				Total	P
	No dysplasia	Mild dysplasia	Moderate dysplasia	Severe dysplasia		
Acanthosis	343 (85.5%)	243 (76.2%)	114 (82%)	76 (80.9%)	776 (81.4%)	.016
Hyperparakeratosis	172 (42.9%)	128 (40.1%)	74 (53.2%)	52 (55.3%)	426 (44.7%)	.009
Hyperorthokeratosis	207 (51.6%)	177 (55.5%)	47 (33.8%)	35 (37.2%)	466 (48.9%)	.000
WHO criteria (2017)						
Architectural criteria						
Irregular epithelial stratification	94 (23.4%)	247 (77.4%)	130 (93.5%)	87 (92.6%)	558 (58.6%)	.000
Loss of polarity of basal cells	116 (28.9%)	266 (83.4%)	130 (93.5%)	89 (94.7%)	601 (63.1%)	.000
Drop-shaped epithelial projections	3 (0.7%)	25 (7.8%)	16 (11.5%)	9 (9.6%)	53 (5.6%)	.000
Increased number of mitotic figures	11 (2.7%)	25 (7.8%)	13 (9.4%)	11 (11.7%)	60 (6.3%)	.001
Abnormal superficial mitotic figures	1 (0.2%)	3 (0.9%)	2 (1.4%)	2 (2.1%)	8 (0.8%)	.242
Early cellular keratinization	15 (3.7%)	33 (10.3%)	21 (15.1%)	17 (18.1%)	86 (9%)	.000
Keratin pearls/dyskeratosis	51 (12.7%)	82 (25.7%)	46 (33.1%)	39 (41.5%)	218 (22.9%)	.000
Loss of cellular cohesion	76 (19%)	151 (47.3%)	79 (56.8%)	60 (63.8%)	366 (38.4%)	.000
Cytological criteria						
Variation in nuclear size	83 (20.7%)	239 (74.9%)	118 (84.9%)	85 (90.4%)	525 (55.1%)	.000
Variation in nuclear shape	88 (21.9%)	242 (75.9%)	121 (87.1%)	83 (88.3%)	534 (56%)	.000
Variation in cellular size	100 (24.9%)	255 (79.9%)	127 (91.4%)	88 (93.6%)	570 (59.8%)	.000
Variation in cellular shape	89 (22.2%)	257 (80.6%)	129 (92.8%)	85 (90.4%)	560 (58.8%)	.000
Increased nuclear-cytoplasm ratio	87 (21.7%)	254 (79.6%)	126 (90.6%)	88 (93.6%)	555 (58.2%)	.000
Atypical mitotic figures	10 (2.5%)	33 (10.3%)	19 (13.7%)	12 (12.8%)	74 (7.8%)	.000
Increased nucleoli number and size	266 (66.3%)	255 (79.9%)	121 (87.1%)	81 (86.2%)	723 (75.9%)	.000
Hyperchromatism	30 (7.5%)	88 (27.6%)	48 (34.5%)	32 (34%)	198 (20.8%)	.000
Other criteria (including Woo, 2012)						
Superficial normal/abnormal mitotic figures	23 (5.7%)	62 (19.4%)	34 (24.5%)	35 (37.2%)	154 (16.2%)	.000
Hyperkeratosis with epithelial atrophy	27 (6.7%)	43 (13.5%)	19 (13.7%)	12 (12.8%)	101 (10.6%)	.012
Basal cell hyperplasia	122 (30.4%)	132 (41.4%)	43 (30.9%)	30 (31.9%)	327 (34.3%)	.013
Endophytic epithelial proliferation	8 (2%)	10 (3.1%)	9 (6.5%)	12 (12.8%)	39 (4.1%)	.000
Irregular superficial keratinization	10 (2.5%)	9 (2.8%)	7 (5%)	4 (4.3%)	30 (3.1%)	.444
Verrucous/papillary superficial proliferation	65 (16.2%)	45 (14.1%)	21 (15.1%)	22 (23.4%)	153 (16.1%)	.190
Coarse chromatin	0 (0%)	2 (0.6%)	0 (0%)	1 (1.1%)	3 (0.3%)	.224
* Increased nuclear size	5 (1.2%)	14 (4.4%)	6 (4.3%)	8 (8.5%)	33 (3.5%)	.003

* Included in the WHO 2005 classification, but removed from the 2017 classification.

Table 6. Distribution of the histological parameters binary system classification. ¹³

Histological criteria	Risk			p
	Low	High	Total	
Acanthosis	719 (81.2%)	57 (85.1%)	776 (81.4%)	.426
Hyperparakeratosis	393 (44.4%)	33 (49.3%)	426 (44.7%)	.437
Hyperorthokeratosis	440 (49.7%)	26 (38.8%)	466 (48.9%)	.087
WHO criteria (2005 and 2017)				
Architectural criteria				
Irregular epithelial stratification	491 (55.4%)	67 (100%)	558 (58.6%)	.000
Loss of polarity of basal cells	534 (60.3%)	67 (100%)	601 (63.1%)	.000
Drop-shaped epithelial projections	37 (4.2%)	16 (23.9%)	53 (5.6%)	.000
Increased number of mitotic figures	37 (4.2%)	23 (34.3%)	60 (6.3%)	.000
Abnormal superficial mitotic figures	2 (0.2%)	6 (9%)	8 (0.8%)	.000
Early cellular keratinization	43 (4.9%)	43 (64.2%)	86 (9%)	.000
Keratin pearls/dyskeratosis	163 (18.4%)	55 (82.1%)	218 (22.9%)	.000
Cytological criteria				
Variation in nuclear size	461 (52%)	64 (95.5%)	525 (55.1%)	.000
Variation in nuclear shape	468 (52.8%)	66 (98.5%)	534 (56%)	.000
Variation in cellular size	506 (57.1%)	64 (95.5%)	570 (59.8%)	.000
Variation in cellular shape	494 (55.8%)	66 (98.5%)	560 (58.8%)	.000
Increased nuclear-cytoplasm ratio	488 (55.1%)	67 (100%)	555 (58.2%)	.000
Increased nuclear size	25 (2.8%)	8 (11.9%)	33 (3.5%)	.000
Atypical mitotic figures	53 (6%)	21 (31.3%)	74 (7.8%)	.000
Increased nucleoli number and size	662 (74.7%)	61 (91%)	723 (75.9%)	.003
Hyperchromatism	172 (19.4%)	26 (38.8%)	198 (20.8%)	.000
Other criteria (including Woo, 2012)				
Superficial norma/abnormal mitotic figures	124 (14%)	30 (44.8%)	154 (16.2%)	.000
Hyperkeratosis with epithelial atrophy	99 (11.2%)	2 (3%)	102 (10.6%)	.036
Basal cell hyperplasia	302 (34.1%)	25 (37.3%)	327 (34.3%)	.592
Endophytic epithelial proliferation	35 (4%)	4 (6%)	39 (4.1%)	.421
Irregular superficial keratinization	28 (3.2%)	2 (3%)	30 (3.1%)	.937
Verrucous/papillary superficial proliferation	138 (15.6%)	15 (22.4%)	153 (16.1%)	.143
Coarse chromatin	2 (0.2%)	1 (1.5%)	3 (0.3%)	.074
* Loss of epithelial cell cohesion	326 (36.8%)	40 (59.7%)	366 (38.4%)	.000

* Included in the WHO 2017 classification.

Table 7. Distribution of histological grade of dysplasia (World Health Organization 2017 classification) according with the binary system classification. ¹³

Grade of dysplasia	Binary system classification		
	Low-risk	High-risk	Total
No dysplasia	396 (98.8%)	5 (1.2%)	401
Mild dysplasia	293 (91.8%)	26 (8.2%)	319
Moderate dysplasia	122 (87.8%)	17 (12.2%)	139
Severe dysplasia	75 (79.8%)	19 (20.2%)	94
Total	886	67	953

Pearson Chi-Square – $p < 0.0001$

3 CONCLUSÃO

As mulheres foram mais acometidas e apresentaram idade média ao diagnóstico superior a dos homens.

Lesões localizadas em ventre de língua e mucosa jugal foram, em média, mais extensas que lesões localizadas em outros locais.

As lesões localizadas no ventre da língua, fundo de vestibulo superior, assoalho da boca e borda lateral de língua apresentaram frequência mais elevada de displasia epitelial moderada ou intensa.

A hiperparaqueratose foi encontrada com maior frequência nas lesões com displasia epitelial moderada ou intensa.

Todos os critérios histológicos utilizados para diagnóstico e classificação da displasia epitelial oral apresentaram maior frequência à medida que o grau de displasia aumentou, demonstrando o padrão evolutivo dessas alterações em conjunto com o desenvolvimento da doença.

A presença de figuras mitóticas normais e anormais superficiais e a proliferação epitelial endofítica parecem ser importantes critérios adicionais para o diagnóstico da displasia epitelial.

REFERÊNCIAS*

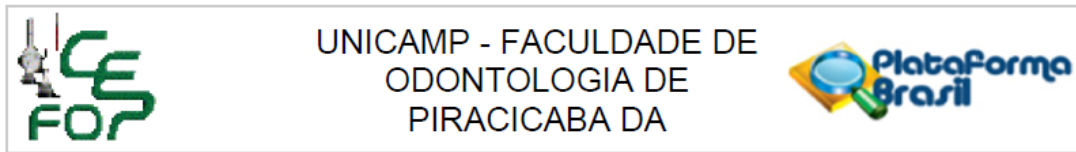
1. Alvarado CG, Maruyama S, Cheng J, Ida-Yonemochi H, Kobayashi T, Yamazaki M, et al. Nuclear translocation of β -catenin synchronized with loss of E-cadherin in oral epithelial dysplasia with a characteristic two-phase appearance. *Histopathology*. 2011 Aug;59(2):283-91. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.03929.x.
2. Brothwell DJ, Lewis DW, Bradley G, Leong I, Jordan RC, Mock D, et al. Observer agreement in the grading of oral epithelial dysplasia. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2003 Aug;31(4):300-5. doi: 10.1034/j.1600-0528.2003.00013.x.
3. Dost F, Lê Cao KA, Ford PJ, Farah CS. A retrospective analysis of clinical features of oral malignant and potentially malignant disorders with and without oral epithelial dysplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2013 Dec;116(6):725-33. doi: 10.1016/j.oooo.2013.08.005.
4. El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ (Eds): WHO Classification of Head and Neck Tumours (4th edition). IARC: Lyon 2017. p. 112–5.
5. Ferreira AM, de Souza Lucena EE, de Oliveira TC, da Silveira É, de Oliveira PT, de Lima KC. Prevalence and factors associated with oral potentially malignant disorders in Brazil's rural workers. *Oral Dis*. 2016 Sep;22(6):536-42. doi: 10.1111/odi.12488.
6. Ganesh D, Sreenivasan P, Öhman J, Wallström M, Braz-Silva PH, Giglio D, et al. Potentially Malignant Oral Disorders and Cancer Transformation. *Anticancer Res*. 2018 Jun;38(6):3223-3229. doi: 10.21873/anticancer.12587.
7. GLOBOCAN - Global Cancer Observatory: Cancer Today [internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2018 [acesso 2020 abr 07]. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today>
8. Ho PS, Chen PL, Warnakulasuriya S, Shieh TY, Chen YK, Huang IY. Malignant transformation of oral potentially malignant disorders in males: a retrospective cohort study. *BMC Cancer*. 2009 Jul 30;9:260. doi: 10.1186/1471-2407-9-260.
9. Hsue SS, Wang WC, Chen CH, Lin CC, Chen YK, Lin LM. Malignant transformation in 1458 patients with potentially malignant oral mucosal disorders: a follow-up study based in a Taiwanese hospital. *J Oral Pathol Med*. 2007 Jan;36(1):25-9. doi: 10.1111/j.1600-0714.2006.00491.x.
10. Ikeda M, Shima K, Kondo T, Semba I. Atypical immunohistochemical patterns can

* De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

- complement the histopathological diagnosis of oral premalignant lesions. *J Oral Biosci.* 2020 Mar;62(1):93-98. doi: 10.1016/j.job.2020.01.003.
11. Liu W, Bao ZX, Shi LJ, Tang GY, Zhou ZT. Malignant transformation of oral epithelial dysplasia: clinicopathological risk factors and outcome analysis in a retrospective cohort of 138 cases. *Histopathology.* 2011 Oct;59(4):733-40. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.03938.x.
 12. Mello FW, Miguel AFP, Dutra KL, Porporatti AL, Warnakulasuriya S, Guerra ENS, et al. Prevalence of oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis. *J Oral Pathol Med.* 2018 Aug;47(7):633-640. doi: 10.1111/jop.12726.
 13. Müller S. Oral epithelial dysplasia, atypical verrucous lesions and oral potentially malignant disorders: focus on histopathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):591-602. doi: 10.1016/j.oooo.2018.02.012.
 14. Nikitakis NG, Pentenero M, Georgaki M, Poh CF, Peterson DE, Edwards P, et al. Molecular markers associated with development and progression of potentially premalignant oral epithelial lesions: Current knowledge and future implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):650-669. doi: 10.1016/j.oooo.2018.03.012.
 15. Nikitakis NG. Special focus issue on potentially premalignant oral epithelial lesions: introduction and perspective. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):575-576. doi: 10.1016/j.oooo.2018.03.013.
 16. Pinto AC, Caramês J, Francisco H, Chen A, Azul AM, Marques D. Malignant transformation rate of oral leukoplakia-systematic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2020 Jun;129(6):600-611.e2. doi: 10.1016/j.oooo.2020.02.017.
 17. Pires FR, Barreto ME, Nunes JG, Carneiro NS, Azevedo AB, Dos Santos TC. Oral potentially malignant disorders: clinical-pathological study of 684 cases diagnosed in a Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020 Jan 1;25(1):e84-e88. doi: 10.4317/medoral.23197.
 18. Ranganathan K, Kavitha L. Oral epithelial dysplasia: Classifications and clinical relevance in risk assessment of oral potentially malignant disorders. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019 Jan-Apr;23(1):19-27. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_13_19.
 19. Soares AB, Perschbacher K, Perez-Ordóñez B. Oral potentially malignant disorders. *Diagnostic Histopathology [internet]* 2018 May [acesso 2020 Abr 20]; 24(5): 161-65. doi: 10.1016/j.mpdhp.2018.03.005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mpdhp.2018.03.005>
 20. Speight PM, Khurram SA, Kujan O. Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):612-627. doi: 10.1016/j.oooo.2017.12.011.

21. Van der Waal I. Oral leukoplakia, the ongoing discussion on definition and terminology. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015 Nov 1;20(6):e685-92. doi: 10.4317/medoral.21007.
22. Villa A, Gohel A. Oral potentially malignant disorders in a large dental population. *J Appl Oral Sci*. 2014 Nov-Dec;22(6):473-6. doi: 10.1590/1678-775720140254.
23. Villa A, Villa C, Abati S. Oral cancer and oral erythroplakia: an update and implication for clinicians. *Aust Dent J*. 2011 Sep;56(3):253-6. doi: 10.1111/j.1834-7819.2011.01337.x.
24. Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med*. 2007 Nov;36(10):575-80. doi: 10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x.
25. Warnakulasuriya S, Kovacevic T, Madden P, Coupland VH, Sperandio M, Odell E, et al. Factors predicting malignant transformation in oral potentially malignant disorders among patients accrued over a 10-year period in South East England. *J Oral Pathol Med*. 2011 Oct;40(9):677-83. doi:10.1111/j.1600-0714.2011.01054.x.
26. Warnakulasuriya S. Clinical features and presentation of oral potentially malignant disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018 Jun;125(6):582-590. doi: 10.1016/j.oooo.2018.03.011.
27. Woo SB, Grammer RL, Lerman MA. Keratosis of unknown significance and leukoplakia: a preliminary study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014 Dec;118(6):713-24. doi: 10.1016/j.oooo.2014.09.016.
28. Yang EC, Tan MT, Schwarz RA, Richards-Kortum RR, Gillenwater AM, Vigneswaran N. Noninvasive diagnostic adjuncts for the evaluation of potentially premalignant oral epithelial lesions: current limitations and future directions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018 Jun;125(6):670-681. doi: 10.1016/j.oooo.2018.02.020.

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DESORDENS POTENCIALMENTE MALIGNAS ORAIS: ANÁLISE CLÍNICO-PATOLÓGICA

Pesquisador: Alexandre Barbosa de Azevedo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 03591018.2.0000.5418

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.084.444

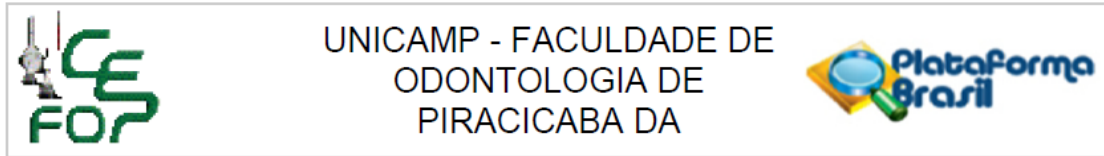
Apresentação do Projeto:

Transcrição editada do conteúdo do registro do protocolo e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil

Delineamento da pesquisa: Trata-se de estudo clínico observacional, transversal, com base em arquivo de lâminas da FO-UERJ, que envolverá 900 indivíduos. O presente estudo consistirá da revisão das informações clínicas, epidemiológicas e histológicas dos casos de leucoplasias, eritroplasias e leucoeritroplasias diagnosticados no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) entre janeiro de 2005 e dezembro de 2018. Os dados clínicos e epidemiológicos serão obtidos a partir das informações contidas nos formulários de solicitação laboratorial de cada caso e incluirão sexo, idade e ocupação dos pacientes; localização anatômica, aspecto clínico e hipóteses diagnósticas clínicas para cada caso; tipo de biopsia realizada e dados do exame macroscópico. Os dados histológicos serão coletados através da revisão das lâminas histológicas coradas em hematoxilina e eosina arquivadas no arquivo do laboratório, por meio de microscopia ótica. Não haverá formação de BIORREPOSITÓRIO para a análise histológica, pois a revisão das lâminas de cada caso se dará de maneira individual, sem a constituição de qualquer tipo de arquivo específico para a elaboração da pesquisa, e, após a análise, a lâmina do caso retornará ao seu local no arquivo de origem. Os critérios histológicos a serem avaliados incluirão: Características arquiteturais e Características citológicas. Os critérios

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52		CEP: 13.414-903
Bairro: Areião	Município: PIRACICABA	
UF: SP	Telefone: (19)2106-5349	Fax: (19)2106-5349
		E-mail: cep@fop.unicamp.br

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (continuação)



Continuação do Parecer: 3.084.444

para exclusão dos casos incluirão: pacientes menores de idade e casos com ausência de informações clínicas nos formulários de submissão ou espécimes laboratoriais insuficientes para análise histológica. Os dados clínicos, epidemiológicos e histológicos coletados serão utilizados para a construção de um banco de dados em uma planilha Excel, os quais serão posteriormente transferidos e analisados descritivamente e comparativamente utilizando o software SPSS (IBM, versão 2.0).

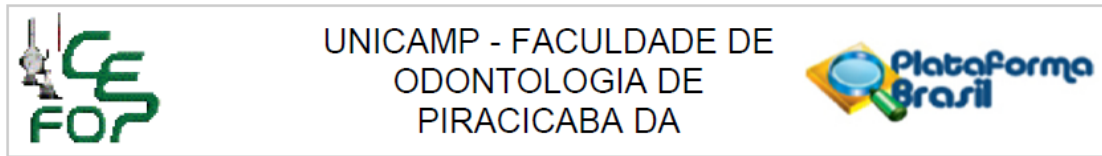
Critérios de inclusão: O critério para inclusão dos casos na pesquisa: todos os casos de leucoplasias, eritroplasias e leucoeritroplasias diagnosticados no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) entre janeiro de 2005 e dezembro de 2018.

Critérios de exclusão: Os critérios para exclusão dos casos incluirão: pacientes menores de idade e casos com ausência de informações clínicas nos formulários de submissão ou espécimes laboratoriais insuficientes para análise histológica.

MATERIAL E MÉTODOS: O presente estudo consistirá da revisão das informações clínicas, epidemiológicas e histológicas dos casos de leucoplasias, eritroplasias e leucoeritroplasias diagnosticados no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) entre janeiro de 2005 e dezembro de 2018. Os dados clínicos e epidemiológicos serão obtidos a partir das informações contidas nos formulários de solicitação laboratorial de cada caso e incluirão sexo, idade e ocupação dos pacientes; localização anatômica, aspecto clínico e hipóteses diagnósticas clínicas para cada caso; tipo de biopsia realizada e dados do exame macroscópico. Os dados histológicos serão coletados através da revisão das lâminas histológicas coradas em hematoxilina e eosina arquivadas no arquivo do laboratório, por meio de microscopia ótica. Não haverá formação de BIORREPOSITÓRIO para a análise histológica, pois a revisão das lâminas de cada caso se dará de maneira individual, sem a constituição de qualquer tipo de arquivo específico para a elaboração da pesquisa, e, após a análise, a lâmina do caso retornará ao seu local no arquivo de origem. Os critérios histológicos a serem avaliados incluirão: Características arquiteturais (estratificação epitelial irregular; perda de polaridade das células basais; projeções epiteliais em forma de gota; aumento do número de figuras mitóticas; pérolas de queratina dentro das projeções epiteliais; queratinização prematura em células individuais; figuras mitóticas anormais superficiais; perda de coesão celular do epitélio; hiperqueratose com atrofia sem inflamação; hiperplasia das células basais; proliferação epitelial volumosa e/ou endofítica; proliferação epitelial verrucosa ou papilar) e Características citológicas (variação anormal do tamanho nuclear; variação anormal na forma nuclear; variação anormal do tamanho das células;

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (continuação)



Continuação do Parecer: 3.084.444

variação anormal na forma das células; relação núcleo/citoplasma alterada; figuras mitóticas atípicas; aumento do número e tamanho dos nucléolos; hiperchromatismo; tamanho nuclear aumentado; disqueratose ou formação de pérola de queratina; células com aparência vítrea do citoplasma). Os critérios para exclusão dos casos incluirão: pacientes menores de idade e casos com ausência de informações clínicas nos formulários de submissão ou espécimes laboratoriais insuficientes para análise histológica.

Os dados clínicos, epidemiológicos e histológicos coletados serão utilizados para a construção de um banco de dados em uma planilha Excel, os quais serão posteriormente transferidos e analisados descritivamente e comparativamente utilizando o software SPSS (IBM, versão 2.0).

O presente estudo será submetido à análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de Campinas e só será iniciado após a respectiva aprovação.

RESULTADOS ESPERADOS: Essa pesquisa deverá fornecer não somente um perfil epidemiológico dos pacientes acometidos pelas DPMO na população brasileira, mas também possibilitará a evidenciação dos parâmetros histológicos dessas lesões. Além disso, deverá produzir informações que possam ajudar a adequar, de maneira mais objetiva, as características usadas para a classificação das displasias, corroborando para a elaboração de um sistema de classificação unificado e universalmente aceito. Tais informações poderão auxiliar no diagnóstico, tratamento e prognóstico das DPMO no futuro.

Análise estatística dos dados: Os dados clínicos, epidemiológicos e histológicos coletados serão utilizados para a construção de um banco de dados em uma planilha Excel, os quais serão posteriormente transferidos e analisados descritivamente e comparativamente utilizando o software SPSS (IBM, versão 2.0).

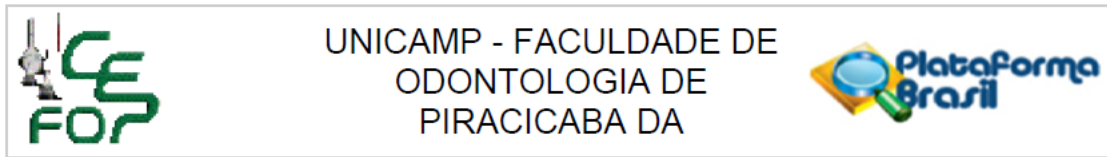
A pesquisa será realizada na área de Patologia Bucal da FO-UERJ.

O cronograma proposto para a pesquisa no projeto informa o início em outubro de 2018 (etapas preliminares), em janeiro de 2019 (coleta de dados), término em junho de 2020 e prevê cerca de 21 meses para conclusão do estudo. O cronograma descrito na PB indica que a pesquisa será iniciada em 24/11/2018 (etapas preliminares), em 01/01/2019 (coleta de dados) e será concluída em 30/06/2020, em cerca de 20 meses.

A lista de pesquisadores citada na capa do projeto de pesquisa inclui Alexandre Barbosa de Azevedo (Cirurgião Dentista, Mestrando no PPG em Estomatopatologia da FOP-UNICAMP, Pesquisador Responsável, orientando) e Fábio Ramoa Pires (Cirurgião Dentista, Docente do PPG em Estomatopatologia da FOP-UNICAMP, Docente da área de Patologia Bucal da FO da UERJ, Pesquisador Participante, orientador), o que é confirmado na declaração dos pesquisadores e na

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (continuação)



Continuação do Parecer: 3.084.444

PB.

Pendência 1 (atendida em 12/12/18)- Quanto à faixa etária esperada e a distribuição por sexo estimada para os participantes, os pesquisadores informaram que “Conforme descrito na literatura, esperamos obter nessa pesquisa uma proporção mais elevada de pacientes com idade superior a 50 anos e estimamos que cerca de 60% dos casos sejam de pacientes do sexo masculino”.

Pendência 2 (atendida em 12/12/18)- Quanto aos critérios de inclusão de amostras no estudo os pesquisadores confirmaram que “O critério para inclusão dos casos na pesquisa: todos os casos de leucoplasias, eritroplasias e leucoeritroplasias diagnosticados no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) entre janeiro de 2005 e dezembro de 2018”.

O arquivo ajustado do projeto de pesquisa, com as áreas modificadas marcadas em amarelo foi apresentado.

Comentário: Os pesquisadores apresentaram arquivo com a capa (apenas a capa) do protocolo, denominado “1Brochura.pdf”, o que é desnecessário, pois o projeto de pesquisa já tem capa com os mesmos dados.

Comentário: Na resposta ao parecer os pesquisadores reapresentaram a FR, aparentemente sem qualquer alteração em relação à FR apresentada originalmente. Nenhuma das pendências apontadas para o protocolo solicitava a reapresentação da FR, o que em princípio para ser desnecessário e não contribui para a resolução das pendências apontadas.

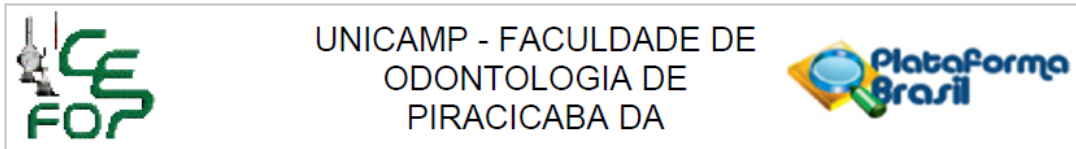
Objetivo da Pesquisa:

JUSTIFICATIVA: A associação entre o grau de displasia epitelial e o risco de transformação maligna das DPMO representa um assunto polêmico; entretanto, ainda é considerado o fator prognóstico mais importante para o tratamento dessas desordens. A classificação histopatológica da displasia epitelial oral recomendada pela Organização Mundial da Saúde tem sido questionada constantemente e outros sistemas de classificação têm sido desenvolvidos por outros pesquisadores, gerando uma falta de consenso entre os patologistas sobre qual deva ser utilizada. De fato, o diagnóstico preciso da displasia epitelial oral é de extrema importância para o estabelecimento do prognóstico e do tratamento mais adequado para o paciente; esse tema tem sido amplamente discutido nos últimos anos, em virtude da divulgação de trabalhos demonstrando aspectos clínicos e histopatológicos associados a prognósticos variáveis em diferentes grupos populacionais.

HIPÓTESE: A associação entre o grau de displasia epitelial e o risco de transformação maligna das

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (continuação)



Continuação do Parecer: 3.084.444

DPMO representa um assunto polêmico; entretanto, ainda é considerado o fator prognóstico mais importante para o tratamento dessas desordens. A classificação histopatológica da displasia epitelial oral recomendada pela Organização Mundial da Saúde tem sido questionada constantemente e outros sistemas de classificação têm sido desenvolvidos por outros pesquisadores, gerando uma falta de consenso entre os patologistas sobre qual deva ser utilizada. De fato, o diagnóstico preciso da displasia epitelial oral é de extrema importância para o estabelecimento do prognóstico e do tratamento mais adequado para o paciente; esse tema tem sido amplamente discutido nos últimos anos, em virtude da divulgação de trabalhos demonstrando aspectos clínicos e histopatológicos associados a prognósticos variáveis em diferentes grupos populacionais.

OBJETIVO PRIMÁRIO: O objetivo primário deste estudo é descrever e analisar os aspectos epidemiológicos, clínicos e histopatológicos das DPMO diagnosticadas em um laboratório de patologia bucal por um período de 13 anos.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS: Descrever os aspectos histopatológicos encontrados e as possíveis variações que não se encontram elencadas nos critérios de diagnóstico dessas desordens; Correlacionar os achados histopatológicos encontrados com as classificações recomendadas na literatura para o diagnóstico das displasias epiteliais orais; Determinar se existem variantes clínico patológicas das leucoplasias, leucoeritropias e eritropias e, em caso afirmativo, propor novos critérios diagnósticos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Quanto aos riscos e desconfortos previstos para os participantes, os pesquisadores informaram que “Não há riscos ou desconfortos aos participantes desta pesquisa, visto que o material utilizado será oriundo de informações e lâminas histológicas arquivadas no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro”.

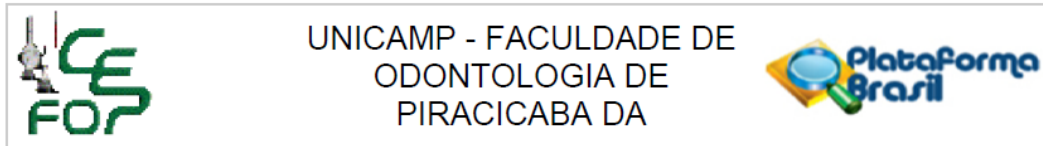
Quanto aos benefícios diretos previstos para os participantes, os pesquisadores informaram que “Os dados obtidos no estudo serão importantes para melhorar o grau de conhecimento do perfil das desordens potencialmente cancerizáveis diagnosticadas na população brasileira assim como para compreender a correlação dos achados clínicos e histológicos nestas lesões. Não há previsão de benefícios diretos aos participantes da pesquisa”.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Quanto ao modo de abordagem dos participantes da pesquisa para a obtenção do TCLE os pesquisadores informaram que “Não é possível aplicação do TCLE, visto que o estudo tem caráter retrospectivo e a análise utilizará as informações contidas nos formulários de requisição

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (continuação)

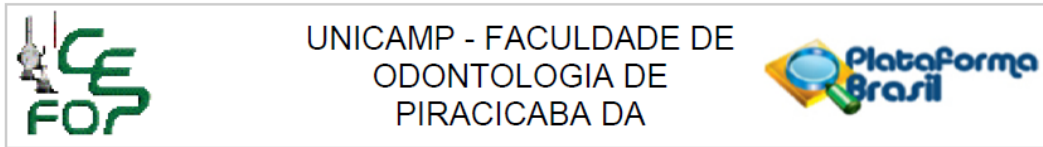


Continuação do Parecer: 3.084.444

laboratorial, que não possuem contato telefônico dos pacientes, e as lâminas histológicas arquivadas no laboratório, não sendo possível realizar entrevista ou avaliação clínica dos pacientes". Os pesquisadores também argumentam que "Eu, Alexandre Barbosa de Azevedo, pesquisador responsável pelo projeto "DESORDENS POTENCIALMENTE MALIGNAS ORAIS: ANÁLISE CLÍNICOPATOLÓGICA", solicito diante deste Comitê de Ética em Pesquisa, a dispensa da utilização do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para a realização deste projeto, tendo em vista que, como critério de inclusão, será utilizado apenas o material (lâminas histológicas) arquivadas no Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Compreendo que, embora esse estudo não tenha participação direta dos pacientes, ao trabalhar com material proveniente deles, como lâminas histológicas, é necessária a autorização dos mesmos para o uso deste material na pesquisa. Entretanto, não é possível aplicação do TCLE, visto que o estudo tem caráter retrospectivo baseado nas informações contidas nos formulários de requisição arquivados no laboratório, que não possuem contato telefônico dos pacientes, e nas lâminas histológicas arquivadas no laboratório, não sendo possível realizar entrevista ou avaliação clínica dos mesmos. Acrescento ainda, que o estudo colherá somente as informações referentes à análise desse material e não produzirá qualquer alteração nos espécimes pertencentes ao arquivo do referido laboratório. Por esta razão, solicitamos ao Comitê de Ética em Pesquisa, a dispensa da aplicação do TCLE e considerando também que o presente estudo não interfere, altera ou sequer apresenta riscos aos pacientes. Pelo contrário, o objetivo principal deste trabalho é melhor compreender e reconhecer estas doenças para que, no futuro, os pacientes que as apresentem tenham um diagnóstico oportuno e, por conseguinte, um tratamento adequado e melhor planejamento prognóstico. Nestes termos, me comprometo a cumprir todas as diretrizes e normas reguladoras descritas na Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), que regulamenta pesquisas envolvendo seres humanos". Quanto à justificativa para participação de grupos vulneráveis os pesquisadores informaram que "Não haverá participação de pacientes vulneráveis, menores de idade ou incapazes nesse estudo". Quanto às medidas para proteção ou minimização dos desconfortos e riscos previsíveis os pesquisadores informaram que "Não há previsão de medidas de proteção, pois não há risco ou desconforto previsível". Quanto às medidas de proteção à confidencialidade os pesquisadores informaram que "A confidencialidade dos dados está garantida. Não será divulgada a identificação dos participantes da pesquisa dos quais utilizaremos apenas as lâminas histológicas. Além disso, não será feito contato com os pacientes envolvidos no estudo e todas as informações serão obtidas junto aos

Endereço: Av. Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (continuação)



Continuação do Parecer: 3.084.444

registros laboratoriais”.

Quanto à previsão de ressarcimento de gastos os pesquisadores informaram que “Não existe previsão de gastos por parte dos participantes da pesquisa, logo, não há previsão de ressarcimento de gastos”.

Quanto à previsão de indenização e/ou reparação de danos os pesquisadores informaram que “Não há previsão de danos aos participantes da pesquisa, logo, não há previsão de indenizações e/ou reparação de danos”.

Quanto aos critérios para suspender ou encerrar a pesquisa os pesquisadores informaram que “Não há previsão de suspensão da pesquisa, portanto a mesma só será encerrada quando houver a obtenção das informações desejadas”.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A FR foi apresentada preenchida (900 participantes, sem patrocinador principal) e assinada pelo pesquisador responsável (Dr Alexandre Barbosa de Azevedo) e pelo Diretor da FOP-UNICAMP (Dr. Francisco Haiter Neto).

A capa do projeto cita os dados solicitados pelo CEP-FOP.

A declaração dos pesquisadores foi apresentada adequadamente preenchida e assinada.

A declaração da instituição foi apresentada adequadamente preenchida e assinada.

Foi apresentada a autorização de acesso e uso dos arquivos de lâminas da área de Patologia Bucal da FO-UERJ assinada pelo Prof. Fábio Ramoa Pires.

A não aplicação do TCLE foi justificada como descrito acima.

Comentário: Foi apresentada cópia do cronograma já apresentado no projeto de pesquisa, o que é desnecessário.

Necessidade de registro de Biorrepositório: A descrição da metodologia indica que serão coletadas amostras biológicas para a realização da pesquisa, mas os pesquisadores explicam que o uso será imediato e que as amostras serão imediatamente retornadas ao arquivo e não haverá estocagem das mesmas, caracterizando o uso imediato e definindo a não necessidade de registro de biorrepositório.

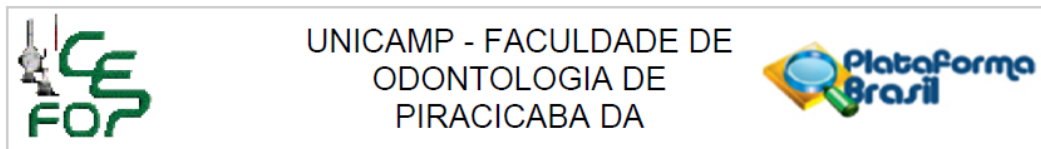
O orçamento descrito na PB informa que a pesquisa não terá custo.

A pesquisa foi classificada na Grande Área 4 (Ciências da Saúde) e tem como título público “DESORDENS POTENCIALMENTE MALIGNAS ORAIS: ANÁLISE CLÍNICO-PATOLÓGICA”. A pesquisa não foi classificada nas áreas temáticas especiais.

A Instituição proponente da pesquisa é a Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp e o Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ foi listado como Instituição Coparticipante.

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (continuação)



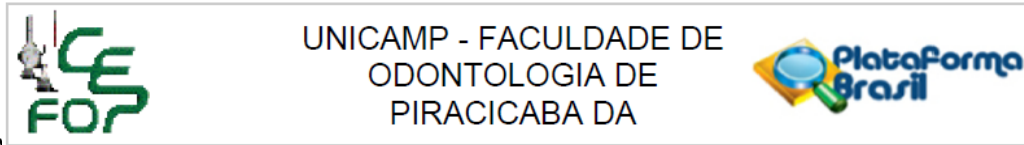
Continuação do Parecer: 3.084.444

Recomendações:

As recomendações a seguir não são pendências e podem ou não ser aplicáveis ao protocolo em tela. Não há necessidade de resposta às mesmas. RECOMENDAÇÃO 1- É obrigação do pesquisador desenvolver o projeto de pesquisa em completa conformidade com a proposta apresentada ao CEP. Mudanças que venham a ser necessárias após a aprovação pelo CEP devem ser comunicadas na forma de emendas ao protocolo por meio da PB. RECOMENDAÇÃO 2- Após a aprovação do protocolo de pesquisa os pesquisadores devem atentar para a necessidade de envio de relatórios parciais de atividade (no mínimo um a cada 12 meses) e do relatório final de atividade (ao término da pesquisa). Os pesquisadores devem informar e justificar ao CEP a eventual necessidade de interrupção ou interrupção total ou parcial da pesquisa. RECOMENDAÇÃO 3- Reforça-se a necessidade do registro de Biorrepositórios para as amostras biológicas coletadas e que não sejam de uso imediato. A intenção deve ser registrada no projeto, no Regulamento do Biorrepositório e no TCLE que será assinado pelo participante. RECOMENDAÇÃO 4- Os pesquisadores devem atentar para a necessidade de aplicação de TCLE para coleta de amostras a serem estocadas em Biobancos e Biorrepositórios e para a necessidade de aplicação de novo TCLE quando da realização de novas pesquisas com o material estocado. RECOMENDAÇÃO 5- Pesquisas com dentes doados por profissionais de saúde ainda são toleradas em hipótese pelo CEP-FOP, mas os pesquisadores devem estar cientes de que esta solução dista do ideal ético de consulta direta ao participante por meio de TCLE específico da pesquisa ou da obtenção dos dentes a partir de um Biobanco de dentes e que estas últimas situações deveriam ser escolhidas em substituição à primeira. RECOMENDAÇÃO 6- Os pesquisadores devem manter os arquivos de fichas, termos, dados e amostras sob sua guarda por pelo menos 5 anos após o término da pesquisa. RECOMENDAÇÃO 7- Destaca-se que o parecer consubstanciado é o documento oficial de aprovação do sistema CEP/CONEP e os certificados emitidos pela secretaria do CEP-FOP, a pedido, após a aprovação final do protocolo, só têm valor simbólico e devem ser evitados. RECOMENDAÇÃO 8- Intercorrências e eventos adversos devem ser relatados ao CEP-FOP por meio da PB. RECOMENDAÇÃO 9- Os pesquisadores devem encaminhar os resultados da pesquisa para publicação e divulgação, com devido crédito a todos que tenham colaborado com a realização da pesquisa. RECOMENDAÇÃO 10- O parecer do CEP-FOP é fortemente baseado nos textos do protocolo encaminhado pelos pesquisadores e pode conter inclusive trechos transcritos literalmente do projeto ou de outras partes do protocolo. Trata-se, ainda assim, de uma interpretação do protocolo. Caso algum trecho do parecer não corresponda ao que efetivamente foi proposto no protocolo, os pesquisadores devem se manifestar sobre esta discrepância. A não manifestação dos pesquisadores será

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (continuação)



A

Continuação do Parecer: 3.084.444

interpretada como concordância com a fidedignidade do texto do parecer no tocante à proposta do protocolo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há mais pendências por resolver (vide texto acima).

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer de aprovação de Protocolo emitido "ad referendum" conforme autorização do Colegiado na reunião de 21/02/2018. Será submetido para homologação na reunião de 13/02/2019.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1263791.pdf	12/12/2018 20:46:11		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	2Projeto.pdf	12/12/2018 20:44:37	Alexandro Barbosa de Azevedo	Aceito
Outros	Respostaparecer.pdf	12/12/2018 20:40:07	Alexandro Barbosa de Azevedo	Aceito
Folha de Rosto	1Folhaderosto.pdf	12/12/2018 20:36:33	Alexandro Barbosa de Azevedo	Aceito
Outros	CEPcompleto.pdf	28/11/2018 11:58:03	Leny Cecilia Faro Pereira	Aceito
Outros	55Autarq.pdf	27/11/2018 17:57:03	Alexandro Barbosa de Azevedo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	52DeclarInstituicao.pdf	27/11/2018 17:48:53	Alexandro Barbosa de Azevedo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	51DeclarPesquisadores.pdf	27/11/2018 17:47:32	Alexandro Barbosa de Azevedo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4TCLE.pdf	27/11/2018 17:46:07	Alexandro Barbosa de Azevedo	Aceito
Outros	3comentarios.pdf	27/11/2018 17:45:14	Alexandro Barbosa de Azevedo	Aceito

Situação do Parecer:

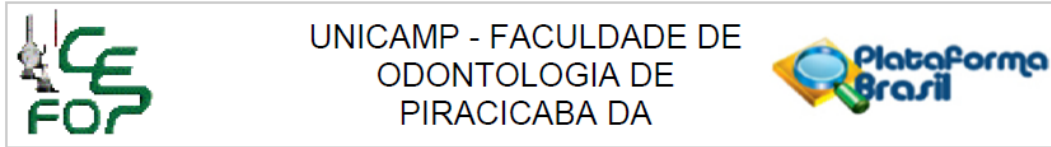
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52
 Bairro: Areião CEP: 13.414-903
 UF: SP Município: PIRACICABA
 Telefone: (19)2106-5349 Fax: (19)2106-5349 E-mail: cep@fop.unicamp.br

ANEXO 1 – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa (continuação)



Continuação do Parecer: 3.084.444

PIRACICABA, 14 de Dezembro de 2018

Assinado por:
jacks jorge junior
(Coordenador(a))

Endereço: Av.Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br

ANEXO 2 – Comprovante de submissão do artigo

20/06/2020

Yahoo Mail - Submission Confirmation

Submission Confirmation

De: OOOO (Triple O) journal (em@editorialmanager.com)

Para: ramoafop@yahoo.com

Data: sábado, 20 de junho de 2020 06:24 BRT

Dear Dr. Pires,

Your submission entitled "Oral potentially malignant disorders: a retrospective clinical and pathological analysis of 953 cases with emphasis on oral epithelial dysplasia" has been received by Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Editorial Manager as an author. The URL is <https://www.editorialmanager.com/tripleo/>
Your username is: ramoafop@yahoo.com

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/tripleo/automail_query.asp

Your manuscript will be given a reference number when an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Sincerely,

Editorial Manager
Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology
<http://www.oooojournal.net/>

E-mail: tripleOjournal@gmail.com

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/tripleo/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

ANEXO 3 – Relatório de verificação de originalidade e prevenção de plágio

DESORDENS POTENCIALMENTE MALIGNAS ORAIS: análise clínica e patológica retrospectiva de 953 casos com ênfase na displasia epitelial oral

RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE

17%	13%	10%	%
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS

FONTES PRIMÁRIAS

1	repositorio.unicamp.br Fonte da Internet	6%
2	"Contemporary Oral Medicine", Springer Science and Business Media LLC, 2019 Publicação	2%
3	www.medicinaoral.com Fonte da Internet	1%
4	www.scielo.br Fonte da Internet	1%
5	www.prg.unicamp.br Fonte da Internet	1%
6	"Contemporary Oral Oncology", Springer Science and Business Media LLC, 2017 Publicação	1%
7	Paul M. Speight. "Update on Oral Epithelial Dysplasia and Progression to Cancer", Head and Neck Pathology, 09/2007	<1%