

Gratia Patricia Lucatelli Nunes

## **Revisão de Literatura de Leucoplasia Oral**

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2016



Gratia Patricia Lucatelli Nunes

**Revisão de Literatura de Leucoplasia Oral**

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2016

Gratia Patricia Lucatelli Nunes

## **Revisão de Literatura de Leucoplasia Oral**

**Assinatura:** \_\_\_\_\_

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária.

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2016

## Resumo

Similar a outras lesões de pele, têm sido identificadas lesões precursoras de carcinoma de células escamosas na mucosa da cavidade oral. Na boca, apresenta-se frequentemente em forma de placa branca, denominada leucoplasia. Na conferência de 2005, a leucoplasia foi definida pela OMS como “uma placa ou mancha branca que não pode ser caracterizada clínica ou patologicamente como qualquer outra doença.” Leucoplasia é, portanto, um diagnóstico clínico de exclusão. A frequência de apresentar displasia epitelial, carcinoma *in situ*, carcinoma verrucoso ou carcinoma de células de escamosas invasivo na leucoplasia oral varia de 8,6% a 60%. A transformação maligna anual de leucoplasia é de 1% a 5 %.

Sendo assim, é de fundamental importância, por parte dos profissionais na saúde e principalmente dos médicos dentistas terem conhecimento da leucoplasia oral para que possam suspeitar, fazer o diagnóstico ou encaminhar a profissionais competentes precocemente para o manejo dessas lesões.

Palavras-chave: Câncer oral, Fatores de risco de câncer oral, Lesões potencialmente malignas, Leucoplasia oral, Displasia epitelial oral, Lesões orais, Transformação maligna, Lesões orais, Diagnóstico diferencial de leucoplasia, Tratamento de leucoplasia oral.

## Abstract

Similar to other skin lesions, premalignant lesions of squamous cell carcinoma of the mucosa of the oral cavity have been identified. In the mouth, it is often shown in shape of white plate, called leukoplakia. In the 2005 conference, leukoplakia was defined by WHO as "a plate or white stain that can not be characterized clinically or pathologically as any other disease." Leukoplakia is, therefore, a clinical diagnosis of exclusion. The frequency it presents epithelial dysplasia, carcinoma *in situ*, verrucous carcinoma or invasive carcinoma cells escomosas vary from 8.6% to 60%. The annual malignant transformation of oral leukoplakia is 1% to 5%.

Therefore, it is fundamental for health professionals and, especially dentists, to have knowledge of oral leukoplakia so that they suspect, diagnose or refer early the competent professionals for managing these injuries.

Keywords: Oral cancer, Risk factor for oral cancer, Potentially malignant lesions, Oral leukoplakia, Oral epithelial dysplasia, Malignant transformation, Oral lesions, Differential diagnosis of leukoplakia, Treatment of oral leukoplakia.

## **Dedicatória**

*A todos os profissionais de saúde,  
em especial, aos médicos dentistas.*

## **Agradecimentos**

Primeiramente agradeço ao divino por tantas oportunidades que me são oferecidas tanto de crescimento pessoal quanto crescimento acadêmico.

Agradeço por todo apoio, dedicação e incentivo dos meus queridos pais, Maria Fatima e Raimundo. Certamente sem eles eu não estaria onde estou. Muito obrigada pelo alicerce a cada dia e por sempre acreditarem em mim e por acreditarem em mim não deixarem que eu desista de meus sonhos.

Aos meus amados irmãos pelo auxílio, paciência e carinho, Paula e Fernando.

Ao meu orientador, Filipe Augusto Martins, que certamente sem ele nada disso seria possível.

À Médica Dentista, Maria José, minha querida amiga e também Mestre, que certamente me inspirou a cada dia de produção e que, apesar da distância física, esteve veementemente presente em cada etapa concluída.

E finalmente, não menos importante, a todos os meus professores da Universidade de Brasília, que contribuíram de alguma forma para minha formação acadêmica.

*“Mais cedo ou mais tarde, os que  
vencem são aqueles que acreditam  
que conseguem...”*

*Richard Bach*

# Índice Geral

<b>Resumo .....</b>	<b>i</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>ii</b>
<b>Dedicatória .....</b>	<b>iii</b>
<b>Agradecimentos .....</b>	<b>iv</b>
<b>Índice de Figuras .....</b>	<b>vii</b>
<b>Lista de Siglas e Abreviaturas .....</b>	<b>x</b>
<b>I INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>II DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Materiais e Métodos .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Apresentação Clínica.....</b>	<b>4</b>
<b>3. Principais Fatores de Risco.....</b>	<b>8</b>
3.1. Tabaco.....	9
3.2. Álcool.....	10
3.3. Outros Fatores de Risco .....	10
3.3.1. <i>Diabetes Mellitus</i> .....	11
3.3.2. HPV .....	11
3.3.3. Trauma .....	11
3.3.4. Fatores Dietéticos.....	12
<b>4. Diagnóstico Diferencial .....</b>	<b>13</b>
<b>5. Aspeto Histopatológico.....</b>	<b>15</b>
<b>6. Aspeto Clínico vs Grau de Diferenciação Celular .....</b>	<b>20</b>

<b>7. Métodos Auxiliares de Diagnóstico .....</b>	<b>21</b>
7.1. Corante Azul de Toluidina .....	21
7.2. Citologia Esfoliativa.....	24
7.3. Sistema de Detecção de Luz.....	26
7.3.1. Quimiluminescência.....	27
7.3.2. VELscope® (Visually Enhanced Lesion Scope, emissão estreita de fluorescência de tecidos) .....	29
<b>8. Formas de Tratamento.....</b>	<b>31</b>
8.1. Excisão cirúrgica (biópsia) .....	31
8.2. Cirurgia a Laser.....	33
8.3. Crioterapia.....	34
8.4. Terapia Fotodinâmica.....	36
8.5. Agentes Quimiopreventivos .....	38
<b>III CONCLUSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>IV REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>42</b>

## Índice de Figuras

Figura 1. Representação esquemática das etapas no diagnóstico de LO (Adaptado de Warnakulasuriya <i>et al.</i> , 2007).....	5
Figura 2. Leucoplasia homogênea em região lingual da gengiva. (Adaptado de Parlatescu <i>et al.</i> , 2014). .....	5
Figura 3. Leucoplasia salpicada na mucosa da comissura do lado esquerdo. (Adaptado de Parlatescu <i>et al.</i> , 2014).....	6
Figura 4. Leucoplasia nodular no palato mole. (Adaptado de Parlatescu <i>et al.</i> , 2014). 6	6
Figura 5. Leucoplasia verrucosa no assoalho da boca. (Adaptado de Parlatescu <i>et al.</i> , 2014). 6	6
Figura 6. Leucoplasia verrucosa proliferativa. (Adaptado de Neville e Day, 2002). ..	7
Figura 7. Eritroplasia em palato molde direito demonstra displasia severa e carcinoma <i>in situ</i> na biópsia, com uma área de carcinoma de células escamosas superficialmente. (Adaptado de Bouquot <i>et al.</i> , 2006). .....	7
Figura 8. Progressão de hiperplasia epitelial para carcinoma oral de células escamosas através de diferentes estágios da displasia: Hiperplasia, Displasia leve, Displasia moderada, Displasia grave (carcinoma <i>in situ</i> ) e carcinoma invasivo oral de células escamosas. (Adaptado de Epstein e Güneri, 2009). .....	16
Figura 9. Leucoplasia. Esquema composto representando as várias fases ou apresentações clínicas da LO, com as respectivas alterações histopatológicas subjacentes esperadas. As lesões apresentam potenciais crescentes de transformação maligna à medida que suas apresentações clínicas aproximam-se das observadas à direita. (Adaptado de Bouquot e Gnepp, 1991). .....	17
Figura 10. Displasia epitelial leve. Núcleos hipercromáticos e levemente pleomórficos observados nas camadas basal e parabasal do epitélio escamoso estratificado. (Adaptado de Neville <i>et al.</i> , 2009).....	18

Figura 11. Displasia epitelial moderada. As alterações displásicas estendem-se até a metade do epitélio e são caracterizadas por hiperchromatismo nuclear, pleomorfismo e aumento da densidade celular. (Adaptado de Neville <i>et al.</i> , 2009).....	18
Figura 12. Displasia epitelial severa. Epitélio exibindo acentuado pleomorfismo, hiperchromatismo e figuras de mitose dispersas. As células atípicas estão presentes na maior parte da espessura do epitélio. (Adaptado de Neville <i>et al.</i> , 2009).....	18
Figura 13. Coloração AT: Carcinoma de células escamosas: (A) Antes da coloração AT; (B) Depois da coloração AT; (C) Absorção nuclear e do epitélio profundo de AT (40x); (D) Coloração hematoxilina e eosina (20x). (Adaptado de Gandolfo <i>et al.</i> , 2006).	
24	
Figura 14. Coloração com AT da lesão posteriormente diagnosticada com displasia leve. (Adaptado de Epstein <i>et al.</i> , 2007).....	24
Figura 15. Técnica de escova de biópsia enfatizando sangramento pontual da mucosa oral. (Adaptado de Mehrotra <i>et al.</i> , 2006).....	25
Figura 16. Imagem demonstrando espalhamento da amostra da escova de biópsia na lâmina. (Adaptado de Mehrotra <i>et al.</i> , 2006). ....	25
Figura 17. Microfotografia de espécime da biópsia de escova de um paciente com carcinoma oral de células escamosas mostrando uma célula binucleada com evidência de queratinização intracelular e extracelular em um fundo inflamatório (Coloração hematoxilina e eosina 400x). (Adaptado de Mehrotra <i>et al.</i> , 2006).....	26
Figura 18. Vista clínica do ventre da língua sob luz incandescente. (Adaptado de Epstein <i>et al.</i> , 2007).....	28
Figura 19. Após lavagem com ácido acético, área visualizada sob iluminação quimioluminescente. (Adaptado de Epstein <i>et al.</i> , 2007).....	29
Figura 20. Exame convencional oral mostrando placa branca homogêneas da mucosa labial inferior e vermelhão do lábio (A). A mesma lesão examinada com VELscope demonstrando autofluorescência retida (B). Achados clínicos e histopatológicos foram	

consistentes com displasia epitelial moderada (coloração hematoxilina e eosina; aplicação de 20x). (Adaptado de McNamara *et al.*, 2012). ..... 30

Figura 21. (D) Lesão de LO na mucosa bucal esquerda antes da crioterapia (D1), após um tratamento de crioterapia mostrou resposta parcial (D2), e após três tratamento de crioterapia mostrou regressão completa (D3). (Adaptado de Lin *et al.*, 2011). ..... 35

## Lista de Siglas e Abreviaturas

AT – Azul de Toluidina

DNA – *Deoxyribonucleic Acid*

EBV – Vírus Epstein-Barr

EUA – Estados Unidos da América

G – Grama

HPV – Papiloma Vírus Humano

IARC – *International Agency for Research on Cancer*

IMC – Índice de Massa Corpórea

LO – Leucoplasia Oral

LPV – Leucoplasia Proliferativa Verrucosa

Nm – Nanómetro

OMS – Organização Mundial da Saúde

ROS – *Reactive oxygen species*

TFD – Terapia fotodinâmica

VELscope® – *Visually Enhanced Lesion Scope*

## I INTRODUÇÃO

O cancro é responsável por elevados índices de mortalidade e morbidade no mundo. O cancro de cabeça e pescoço corresponde a 10% dos tumores malignos no mundo e aproximadamente 40% são em cavidade oral (INCA, 2002).

Na maioria dos países a taxa de mortalidade de cancro oral é cerca de 3 – 4 por 100,000 em homens e 1,5 – 2,0 por 100,000 em mulheres. A mortalidade para cancro oral tem aumentado consideravelmente na maioria dos países europeus entre 1950 e 1980 (Warnakulasuriya, 2009).

Os cancros de boca e faringe correspondem ao 6º lugar de cancros mais comuns no mundo. Estima-se que aproximadamente 275 novos casos para cancro oral e 130,000 para cancro de faringe, excluindo nasofaringe. Cerca de 6% dos cancros orais ocorrem em jovens com idade inferior a 45 anos. Existe um aumento na incidência na taxa de mortalidade de cancro de boca e orofaringe em jovens adultos na União Europeia e partes dos Estados Unidos (Warnakulasuriya, 2009).

Na última década, ocorreu uma tendência crescente para o cancro bucal na população portuguesa em ambos os sexos e, especialmente, no grupo feminino (Albuquerque *et al.*, 2012).

Cirurgia e radioterapia são tratamentos norma para lesões pré-cancerosas e cancerosas de mucosa oral, mas essas modalidades de tratamento estão relacionadas com complicações (Ribeiro *et al.*, 2010) e podem deixar graves sequelas (Warnakulasuriya, 2009; Vissink, 2003) que diminuem de forma considerável a qualidade de vida do paciente, tais como: dificuldade na deglutição e fala; hipossalivação; cárie de radiação; alteração no paladar; distúrbios na remodelação óssea; trismo; mutilações decorrentes do tratamento cirúrgico; depressão (em decorrência de mutilações) e deficiência nutricional (em consequência do quadro geral de sequelas).

A leucoplasia é considerada uma das lesões orais potencialmente malignas, que com o decorrer do tempo apresenta possibilidade de se malignizar e se tornar um carcinoma oral (Warnakulasuriya *et al.*, 2007).

O carcinoma é considerado uma lesão com grandes chances de prevenção, tendo em vista que os maiores fatores de risco são o tabagismo e o abuso de álcool associado (Warnakulasuriya *et al.*, 2009; Shan e Gil., 2009).

Segundo a OMS, a Região Europeia tem a maior percentagem atual de tabagistas entre adultos maiores de 15 anos de idade, entre todas as regiões consideradas pela OMS. Aproximadamente 41% dos homens e 22% das mulheres fumam atualmente produtos do tabaco. Em contrapartida, no mundo encontra-se 36% de homens e 8% de mulheres (OMS, 2009).

Além disso, a população nesta região são os maiores consumidores de álcool no mundo. Na União Europeia, o álcool é responsável por cerca de 120 000 mortes prematuras por ano: 1 em 7 em homens e 1 em cada 13 em mulheres (OMS, 2013).

É possível obter diagnóstico precoce de LO nas consultas de rotina realizadas por médicos dentistas, assim como através do autoexame, em que podem ser observadas alterações na mucosa. Entretanto, levando-se em consideração a possibilidade que parte dos médicos dentistas e médicos não estejam efetivamente informados sobre os fatores de risco e reconhecimento de sinais e sintomas da doença, não realizam o exame de rotina para detecção e diagnóstico precoce do cancro bucal (Neville e Day, 2002).

Infelizmente muitos médicos dentistas não abordam o tema sobre consumo do álcool como fator de risco, visando não constranger o paciente. Adicionalmente, a ausência de campanhas de conscientização e esclarecimento no que se refere à possibilidade do aparecimento de lesões potencialmente malignas na cavidade oral aparentemente inofensiva leva os portadores menosprezarem estas lesões e, portanto, não procurarem orientação profissional especializada. Desta maneira, torna-se necessário o estabelecimento de capacitação dos médicos dentistas para promoção e prevenção da saúde, assim como elaboração de protocolos que facilitem a comunicação entre médicos dentistas e seus pacientes sobre o tema (Brocklehurst *et al.*, 2010).

## II DESENVOLVIMENTO

### 1. Materiais e Métodos

O presente trabalho é uma revisão de literatura sobre LO que tem como objetivos ressaltar a importância do diagnóstico precoce desta lesão, enumerar os fatores de risco, descrever as características clínicas e histopatológicas, como fazer o diagnóstico diferencial com outras lesões, citar os métodos auxiliares de diagnóstico e relacionar os tipos disponíveis de tratamento mais efetivos atualmente utilizados. Sendo assim, tem-se como finalidade tornar essas informações acessíveis e sensibilizar os médico-dentistas para avaliar seus pacientes a cada consulta assim como incentivá-los e orientá-los a fazer o autoexame como rotina quanto ao aparecimento de qualquer anormalidade da mucosa, principalmente aqueles pacientes do grupo de risco.

Para a busca dos artigos científicos, foram utilizados principalmente a base de dados PubMed (mantido pela National Library of Medicine), assim como artigos oriundos do banco de dados SciELO (Scientific Electronic Library Online), entre outros.

Foram selecionados os seguintes tipos de estudo: revisões sistemáticas e metanálises, ensaios clínicos randomizados e controlados, assim como estudos e relatos de casos clínicos in vitro ou in vivo em humanos.

O critério de busca utilizado foi a combinação dos seguintes termos: *Oral cancer; Risk factor for oral cancer; Potentially malignant lesions; Oral leukoplakia; Oral epithelial dysplasia; Malignant transformation; Oral lesions; Differential diagnosis of leukoplakia; Treatment of oral leukoplakia.*

Os critérios de inclusão foram: artigos com as palavras-chave citadas acima, escritos nas línguas inglesa e portuguesa, publicados principalmente entre os anos de 2000 a 2015 com ressalva de poucos artigos que foram considerados relevantes.

Além dos artigos, também foram utilizadas obras literárias on-line em formato PDF que se relacionavam com o tema.

## 2. Apresentação Clínica

A leucoplasia é uma das lesões pré-cancerígenas mais frequentes de carcinoma oral de células escamosas (Dietrich *et al.*, 2004).

A estimativa de prevalência de leucoplasia no mundo é aproximadamente 2% (Petti, 2003).

A taxa transformação maligna anual de leucoplasia é de 1% a 5% (Woo *et al.*, 2014). A incidência de carcinoma oral de células escamosas na Europa é de 0,014% e este carcinoma é 36 vezes mais frequente em LO (Scheifele e Reichart, 2003).

De todos os casos de leucoplasia 3 a 13,8% sofrem transformação maligna e a presença de displasia epitelial nessa lesão pode aumentar o risco de transformação maligna em até 40% (Kawczyk-Krupka *et al.*, 2012).

A prevenção da transformação maligna é particularmente importante em vista do mau prognóstico associado com carcinoma epidermoide de boca, com apenas 30% a 40% dos doentes ainda vivos 5 anos após o diagnóstico (Scully e Porter, 2000).

O termo leucoplasia é utilizado para reconhecer placas brancas de questionável risco sendo descartadas outras lesões conhecidas que não possuem risco aumentado para o cancro (Warnakulasuriya *et al.*, 2007).

A OMS (2005) define leucoplasia como “uma placa ou mancha branca que não pode ser caracterizada clínica ou patologicamente como qualquer outra doença.”

Esta nomenclatura é meramente clínica pois a lesão não possui alteração histopatológica específica (Neville *et al.*, 2009). A lesão possui um variável padrão de comportamento podendo ou não possuir displasia epitelial, porém, possui uma tendência para transformação maligna (Warnakulasuriya *et al.*, 2007).

Um diagnóstico provisório de leucoplasia é feito quando uma lesão predominantemente branca ao exame clínico não seja claramente diagnosticada como qualquer outra doença ou desordem de mucosa oral. Já um diagnóstico definitivo é feito quando qualquer causa etiológica, excetuando tabaco e uso de noz de areca, tenha sido

excluído e histologicamente não tenha sido confirmada qualquer outra desordem específica (Warnakulasuriya *et al.*, 2007). Um diagrama esquemático proposto para auxiliar no diagnóstico de LO encontra-se na Figura 1 a seguir.

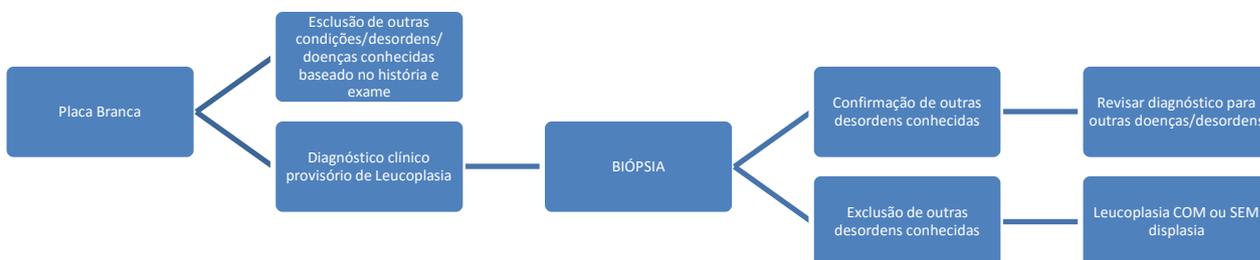


Figura 1. Representação esquemática das etapas no diagnóstico de LO (Adaptado de Warnakulasuriya *et al.*, 2007).

Segundo Warnakulasuriya *et al.* (2007) as lesões de leucoplasia podem ser classificadas em homogênea e não-homogênea.

As lesões homogêneas (Figura 2) são lisas e finas e possuem uma superfície rasa de queratina. Sua transformação maligna é relativamente baixa.



Figura 2. Leucoplasia homogênea em região lingual da gengiva. (Adaptado de Parlatescu *et al.*, 2014).

Já as lesões não-homogêneas implicam um alto risco de transformação maligna. Essas lesões podem ser: salpicada, nodular e verrucosa.

- Salpicada: misturada, branco e vermelho, mas retendo predominantemente o caráter branco (Figura 3);



Figura 3. Leucoplasia salpicada na mucosa da comissura do lado esquerdo. (Adaptado de Parlatescu *et al.*, 2014).

- Nodular: pequenas protuberâncias polipoides, vermelhas arredondadas ou excrescências brancas (Figura 4);



Figura 4. Leucoplasia nodular no palato mole. (Adaptado de Parlatescu *et al.*, 2014).

- Verrucosa: aparência de superfície enrugada ou ondulada (Figura 5).



Figura 5. Leucoplasia verrucosa no assoalho da boca. (Adaptado de Parlatescu *et al.*, 2014).

A Leucoplasia Verrucosa Proliferativa (Figura 6) é considerada um subtipo de leucoplasia verrucosa caracterizada por evolução agressiva, aparência multifocal,

resistência ao tratamento, alto grau de recorrência e alta taxa de transformação maligna (Parlatescu *et al.*, 2014).

A LVP possui uma etiologia incerta. Esta lesão tem sido relacionada com a presença de HPV, porém, ainda não há confirmação (Bagan *et al.*, 2007). No entanto, segundo resultado de análise de lesões de LVP por Bagan *et al.* (2008), o EBV está fortemente associado à LVP pois há uma percentagem considerável (60% de LVP analisados) de presença deste vírus nessas lesões.



Figura 6. Leucoplasia verrucosa proliferativa. (Adaptado de Neville e Day, 2002).

O termo eritroplasia oral (Figura 7), por sua vez, é empregado para denominar lesão bucal macular ou em placa, de coloração vermelha. Semelhantemente a definição de leucoplasia, eritroplasia é um termo meramente clínico que se refere a uma macha vermelha que não pode ser definida clinicamente ou patologicamente em qualquer outra condição (Neville e Day, 2002).



Figura 7. Eritroplasia em palato molde direito demonstra displasia severa e carcinoma *in situ* na biópsia, com uma área de carcinoma de células escamosas superficialmente. (Adaptado de Bouquot *et al.*, 2006).

Quando essa lesão existe na forma de áreas vermelhas e brancas ou pontos granulares esbranquiçados sobrepostos à região vermelha, as lesões são designadas por eritroleucoplasia, leucoeritroplasia ou leucoplasia salpicada, como citada anteriormente nas lesões de leucoplasia não-homogênea (Reibel, 2003). Segundo a OMS (2005), essas lesões que apresentam componentes leucoplásicos e eritroplásicos são denominadas leucoplasias salpicadas.

A eritroleucoplasia ou também conhecida como leucoplasia mosqueada é classificada como uma leucoplasia do tipo não-homogênea. Apresenta-se com uma mistura de áreas brancas e vermelhas. Frequentemente esse tipo de lesão possui displasia avançada em exames histopatológicos e por isso merece uma atenção especial (Neville *et al.*, 2009). Em cerca de 90% dessas lesões há presença de displasia moderada a intensa, ou carcinoma *in situ*, ou carcinoma invasor (Kowalski *et al.*, 2008).

Aproximadamente 70% das leucoplasias orais são encontradas no vermelhão do lábio, mucosa jugal e gengiva (Neville *et al.*, 2009).

A localização de LO tem uma correlação significativa com a frequência de achados de displásicos ou alterações malignas na biópsia (Neville e Day, 2002). Lesões em língua, vermelhão dos lábios e assoalho bucal somam mais de 90% daquelas que apresentam displasia ou carcinoma (Neville *et al.*, 2009).

Os fatores mais reconhecidos que estatisticamente carregam um risco aumentado de transformação maligna em um carcinoma de células escamosas são: gênero feminino, tempo de duração da leucoplasia, leucoplasia em não fumantes, localização em língua e/ou no assoalho da boca, tamanho maior do que 200m<sup>2</sup>, lesões não-homogêneas, presença de displasia epitelial e aneuploidia do DNA (Van der Waal, 2009).

### **3. Principais Fatores de Risco**

A etiologia da LO é multifatorial (Parlatescu *et al.*, 2014).

No entanto, os principais fatores de risco de desenvolvimento de lesão de LO são o tabagismo e álcool abusivo associado (Dietrich *et al.*, 2004).

Apesar de que exista estudo em que o consumo de álcool abusivo tem sido considerado um fator de risco independente (Maserejian *et al.*, 2006).

### 3.1. Tabaco

Tabaco é o fator de risco mais importante de cancro de boca e lesões potencialmente malignas. Hábitos de fumar ou mascar tabaco estão associados ao desenvolvimento dessas lesões (Reichart, 2001).

Existem diferentes formas de consumo do tabaco. Entre elas estão o consumo de noz de areca (uma semente oriunda de uma palmeira nativa do sul da Ásia chamada Areca catechu) e de folha de bétel (uma folha de uma espécie de videira cultivada em climas quentes e úmidos na Ásia) com o tabaco. É frequente a utilização destes elementos em associação, conhecido como *Betel Quid* (sinônimo de *Paan ou Pan*). O *Betel Quid* é a combinação de noz de areca, cal apagado (hidróxido de cálcio), folhas de bétel e frequentemente o tabaco e outras especiarias de acordo com as preferências locais. Os ingredientes são dobrados na folha de bétel e mastigados (OMS, 2004).

O termo noz de bétel, embora vulgarmente utilizado na literatura científica, causa uma considerável confusão, portanto deve ser evitado. O termo adequado é noz de areca, porque vinha de bétel e palmeira de areca são plantas diferentes (OMS, 2004).

A mastigação de *Betel Quid* com ou sem tabaco foi considerada no trigésimo sétimo volume da Monografia do IARC (1985) e evidências suficientes foram relatadas para *Betel Quid* com tabaco, porém para o *Betel Quid* sem tabaco eram ainda insuficientes. Desde então foram realizados vários estudos epidemiológicos em diversas regiões em que o tabaco não é adicionado (OMS, 2004).

Em estudo transversal feito na Índia por Hashibe *et al.* (2000) foi observado que existe um risco aumentado para desenvolvimento de LO para as pessoas que possuem o hábito de mascar *Betel Quid* com o tabaco. Sendo esse risco ainda maior para as pessoas que engoliram o suco durante a mastigação ou manteve o *Betel Quid* na boca durante a noite.

Em estudo retrospectivo de coorte por Shiu *et al.* (2000) foi constatado um risco para desenvolvimento de LO significativo de 17 vezes entre os mascadores atuais de *Betel*

*Quid*, enquanto o risco para os ex-mascadores foi apenas duas vezes e não foi significativo. O nível de intensidade de uso também foi fator de aumento de risco, sugerindo uma relação de dose-resposta entre a mastigação de noz de areca e a LO.

Segundo Dietrich *et al.* (2004), verificou-se que o fumo do tabaco é um forte e independente fator de risco de LO. Este efeito é evidente tanto para fumo de cigarro como também para fumo de cachimbo. Existe uma relação dose-resposta para fumo de tabaco e é medida cumulativa de dose e exposição para o aparecimento de lesão de leucoplasia.

### 3.2. Álcool

O consumo de álcool sozinho e/ou associado ao tabaco é considerado o segundo maior fator de risco relacionado ao desenvolvimento de LO no mundo ocidental (Dietrich *et al.*, 2004; Warnakulasuriya *et al.*, 2008).

O álcool é um fator de risco independente. O tipo de bebida ou padrão de consumo não influencia (Maserejian *et al.*, 2006).

Segundo estudo de Maserejian *et al.* (2006) foi constatado 1,5 vezes maior de ocorrência de lesões potencialmente malignas com a ingestão de bebidas alcoólicas.

Entretanto, ainda há controvérsias em relação a contribuição do álcool como fator independente e o aparecimento de LO (Diajil *et al.*, 2013).

Chandu e Smith (2005) defendem que o álcool é considerado um indicador de mal prognóstico para lesões potencialmente malignas e recomendam a remoção dos fatores etiológicos tais como consumo de álcool e tabaco para minimizar a recorrência. O tratamento destas lesões é mais eficaz quando o hábito de ingestão de álcool é abandonado (Diajil *et al.*, 2013).

### 3.3. Outros Fatores de Risco

Outros fatores também têm sido relatados como importantes fatores coadjuvantes para o desenvolvimento de lesões orais de leucoplasia.

Dentre as possíveis causas relatadas na literatura pode se considerar: *Diabetes Mellitus*, HPV, Trauma, Fatores Dietéticos (alimentos ricos em beta-caroteno, chá verde e IMC baixo), e Etiologia Idiopática (não possui causa certa ou conhecida).

### 3.3.1. *Diabetes Mellitus*

De acordo com os resultados do estudo de Dietrich *et al.* (2004) há uma forte associação entre *diabetes mellitus* e a prevalência de LO. Os portadores de *diabetes mellitus* são três vezes mais propensos a desenvolver LO do que os não-diabéticos. De fato, *diabetes mellitus* implica alterações metabólicas e imunológicas que afetam a mucosa oral. No entanto, a associação entre *diabetes mellitus* e aparecimento de LO ainda é obscura.

### 3.3.2. HPV

De acordo com Yang *et al.* (2009), o HPV presente em LO não implica necessariamente em uma transformação maligna. O único fator significativo para a transformação maligna pareceu ser a recidiva da LO após tratamento. Isso pode indicar que o tratamento não foi adequado ou que os fatores de risco não foram eliminados.

Apesar da LPV estar fortemente associada em literatura com a presença de HPV, nos estudos de Campisi *et al.* (2004) verificou-se que os riscos de infecção pelo HPV são muito semelhantes entre LVP e LO. Sendo assim, seus dados confirmaram ausência de relacionamento entre infecção de HPV e LVP.

Existem resultados conflitantes de estudos relacionados com o possível papel da infecção do HPV no desenvolvimento de LO (Bagan *et al.*, 2007).

### 3.3.3. Trauma

A irritação mecânica crônica pode produzir uma lesão branca com superfície ceratótica áspera denominada ceratose friccional, dentre elas estão por exemplo lesões traumáticas como linha alba, *morsicatio*, abrasão gengival por escovação dentária, trauma de dentadura e trauma da crista do rebordo alveolar edêntulo por funções mastigatórias (Neville *et al.*, 2009).

Lesões ceratóticas sem evidência histopatológica de displasia mostraram transformação maligna em 1% a 30% dos casos (Woo *et al.*, 2014).

Segundo Woo *et al.* (2014) muitos casos de leucoplasia (46,2%) ocorrem em locais de alto risco de displasia epitelial e carcinoma de células escamosas, como na língua, no assoalho de boca e no palato mole. No entanto, a lateral da língua é uma região frequentemente associada com a queratose friccional. Dessa forma, é possível que determinadas leucoplasias associada a essa região e outras regiões acometidas por queratose friccional sejam provenientes de queratose de atrito. Geralmente estão acometidas em regiões como lateral e ventre da língua, assoalho de boca e palato mole.

No entanto, Neville *et al.* (2009), defende que esse tipo de lesão está associado a um potencial de transformação maligna baixo e que nada mais é do que uma resposta hiperplásica normal. Além disso, são reversíveis após a eliminação do trauma.

#### 3.3.4. Fatores Dietéticos

Em estudos de caso-controle de base populacional de Nagao *et al.* (2000) sugeriram que os níveis de soro elevado de beta-caroteno e de licopeno reduziram o risco de leucoplasia em homens japoneses. Entretanto, existem estudos que ainda não confirmaram esta associação.

Legumes ricos em beta-caroteno, tais como brócolos, cenoura e pimentão ou vegetais de folhas verdes parecem oferecem maior proteção do que os vegetais que carecem de beta-caroteno (Amarasinghe *et al.*, 2013).

Segundo resultados de Amarasinghe *et al.* (2013), estatisticamente foram observados efeitos protetores significantes para a ocorrência de desordem oral potencialmente maligna e leucoplasia diante consumo elevado de frutas e legumes contendo beta-caroteno.

O chá verde, em alguns estudos, mostra-se como um fator preventivo. Foi relatado uma redução significativa 60% (para aqueles que bebem > 5 xícaras / dia) e 35% (para aqueles bebem 1-2 xícara / dia) em desenvolvimento de cancros orais (Ide *et al.*, 2007). Regressão de desordens orais potencialmente malignas por suplementação com chá verde confirmam isso (Tsao *et al.*, 2009).

O IMC baixo também foi associado com o risco de ocorrência de desordem oral potencialmente maligna e leucoplasia por Amarasinghe *et al.* (2013), Lubin *et al.* (2011) e Hashibe *et al.* (2000).

### 3.3.5 Etiologia Idiopática

De acordo com Shiu *et al.* (2000) o risco de malignização de LO em pacientes não tabagistas é maior do que em pacientes que o são. Porém, é questionável fazer uma distinção entre essas duas categorias pois é difícil obter informações confiáveis sobre a quantidade do consumo de tabaco, o tipo de produtos de tabaco e a quantidade de maços/ano. É importante considerar também o consumo de tabaco associado ao de álcool, hábitos de mascar noz de bétel e fatores dietéticos. Portanto, não é viável distinguir LO associado ao tabaco de leucoplasia não associada ao tabaco, também conhecida como leucoplasia idiopática.

## 4. Diagnóstico Diferencial

A LO se assemelha clinicamente com muitas lesões orais. Por isso é importante estabelecer o diagnóstico diferencial clínico para que se chegue a um diagnóstico provisório (Warnakulasuriya *et al.*, 2007).

Um diagnóstico provisório de LO é feito quando a lesão em questão é predominante branca e ao exame clínico não pode ser diagnosticada em qualquer outra desordem da mucosa bucal. A biópsia é mandatória para um diagnóstico definitivo. E esta é feita quando histologicamente não é confirmado para nenhuma outra desordem (Warnakulasuriya *et al.*, 2007).

Existem muitas lesões brancas orais que devem ser consideradas e excluídas para que se possa concluir um diagnóstico provisório de LO. Segundo Warnakulasuriya *et al.* (2007) tem-se:

- Nevo esponja branca: Observado no início da vida, história familiar, grandes áreas envolvidas, mucosa genital pode estar afetada;

- Queratose friccional: Histórico de trauma, principalmente ao longo do plano oclusal, existe uma causa etiológica aparente, na maioria dos casos reversível com a eliminação da causa;
- *Morsicatio buccarum*: Mordedura de lábios conhecida, presença de flocos esbranquiçados irregulares;
- Lesão química: Histórico conhecido, local da lesão corresponde à lesão química, sintomatologia dolorosa, resolução rápida;
- Candidíase aguda pseudomembranosa: A membrana pode ser removida por raspagem deixando uma superfície eritematosa;
- Leucoedema: Mucosa bucal bilateral, pode-se fazer desaparecer no estiramento, relacionado à etnia negra;
- Líquen plano (tipo placa): Outras formas de líquen plano (reticulares) encontrados em associação;
- Reação liquenóide: Histórico de drogas como por exemplo próximo a uma restauração de amálgama;
- Lúpus eritematoso discóide: Lesão circunscrita com eritema central, linhas brancas irradiando;
- Enxerto de pele: Histórico conhecido;
- Leucoplasia pilosa: Queratose bilateral na língua;
- Estomatite nicotínica (nicotina palatina, palato do tabagista): Histórico de tabagismo, presença de palato branco acinzentado.

As lesões em que a biópsia é indicada são líquen plano, reação liquenóide e leucoplasia pilosa, esta apresenta-se com coilocitose e EBV ao exame histopatológico. Deve ser realizada a biópsia com suporte de imunofluorescência e outras investigações quando há suspeita de lúpus eritematoso discóide. Em caso de persistência da lesão após a remoção da causa em suspeita de queratose friccional também é necessário a biópsia,

principalmente em tabagistas. As demais lesões não são indicadas a biópsia. A cultura de swab é indicada em candidose pseudomembranosa para a confirmação do diagnóstico (Warnakulasuriya *et al.*, 2007).

Segundo Van der Waal (2009), além das lesões mencionadas anteriormente ainda existem mais algumas lesões brancas que devem ser consideradas para o diagnóstico diferencial de LO, dentre elas:

- Queimadura por aspirina: Histórico de aplicação local de tabletes de aspirina;
- Candidíase hiperplásica: Não há consenso na literatura como se reconhece um candidíase hiperplásica oral, por isso alguns se referem como lesão de cândida associada a leucoplasia;
- *Linea alba*: Aspeto clínico localizado na linha de oclusão da mucosa da bochecha;
- Sífilis secundária: Aspeto clínico e presença de *T. pallidum* em sorologia;
- Papiloma: Aspeto clínico e exame histopatológico;
- Lesão induzida por rapé: Aspeto clínico, local onde o rapé foi colocado.

Para um diagnóstico diferencial de LO em exames histopatológicos deve-se considerar que epitélio escamoso reativo, regenerativo ou reparativo, por exemplo por resposta por trauma, inflamação, irradiação ou ulceração podem manifestar citologia atípica ou distúrbio na arquitetura. Deficiências nutricionais como ferro, ácido fólico e vitamina B12 também podem simular displasia. Portanto, a história clínica é importante e alterações morfológicas sugestivas que estimulam eventos como ulceração, inflamação, hemorragia, alargamento nuclear do fibroblastos e /ou endotélio induzido por radiação e hiperchromatismo podem estar presentes. No entanto, as alterações epiteliais nesses casos são menores que em displasia (Warnakulasuriya *et al.*, 2008).

## **5. Aspeto Histopatológico**

Hiperqueratose moderada e hiperplasia epitelial sem displasia são os achados histológico mais comuns em LO (Duncan *et al.*, 2007).

No entanto, 5% a 25% dos casos há presença de displasia epitelial. Quando presentes, essas alterações displásicas tipicamente iniciam-se nas porções basal e parabasal do epitélio. As alterações histopatológicas das células epiteliais displásicas são similares às observadas no carcinoma de células escamosas (Neville *et al.*, 2009).

A displasia é considerada uma alteração do epitélio escamoso estratificado, acompanhada de presença de atipia celular e perda de maturação e estratificação (Reibel, 2003).

Aproximadamente 90% das lesões de LO mostram em sua análise histopatológica hiperqueratose e/ou hiperplasia epitelial, 5% displasia epitelial ou carcinoma *in situ* e 5% carcinoma invasivo (Neville *et al.*, 2009).

A frequência de apresentar displasia epitelial, carcinoma *in situ*, carcinoma verrucoso ou carcinoma de células de escamosas invasivo na LO é de 8,6% a 60% (Woo *et al.*, 2014).

A Figura 8 abaixo ilustra como apresenta-se ao exame histopatológico a progressão de uma lesão oral desde a hiperplasia epitelial, os diversos níveis de displasia a carcinoma oral de células escamosas.

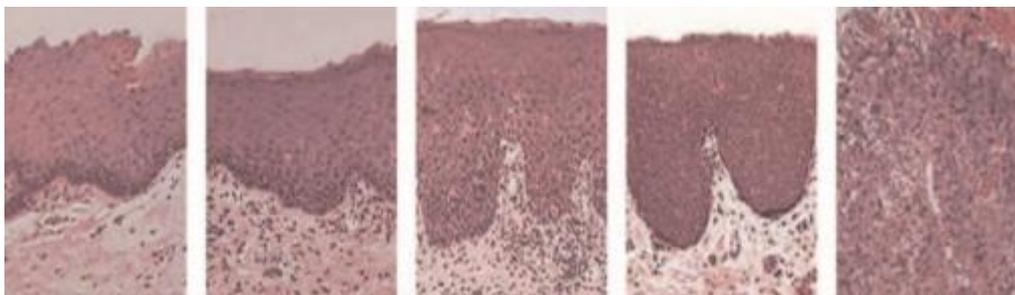


Figura 8. Progressão de hiperplasia epitelial para carcinoma oral de células escamosas através de diferentes estágios da displasia: Hiperplasia, Displasia leve, Displasia moderada, Displasia grave (carcinoma *in situ*) e carcinoma invasivo oral de células escamosas. (Adaptado de Epstein e Güneri, 2009).

Histologicamente, a leucoplasia é caracterizada por uma camada espessa de ceratina do epitélio de superfície, com presença ou não de acantose (espessamento da camada espinhosa). Normalmente é observado células da inflamação crônica no interior do tecido conjuntivo subjacente. A camada de ceratina pode consistir em paraceratina (os núcleos epiteliais encontram-se retidos na camada de ceratina e não há uma camada de

células granulares), ortoceratina (os núcleos estão ausentes na camada de ceratina e há uma camada de células granulares) ou uma combinação de ambas (Neville *et al.*, 2009).

A Figura 9, por sua vez, ilustra as características histopatológicas presentes em cada etapa da progressão de uma LO e suas respectivas características clínicas correspondentes.

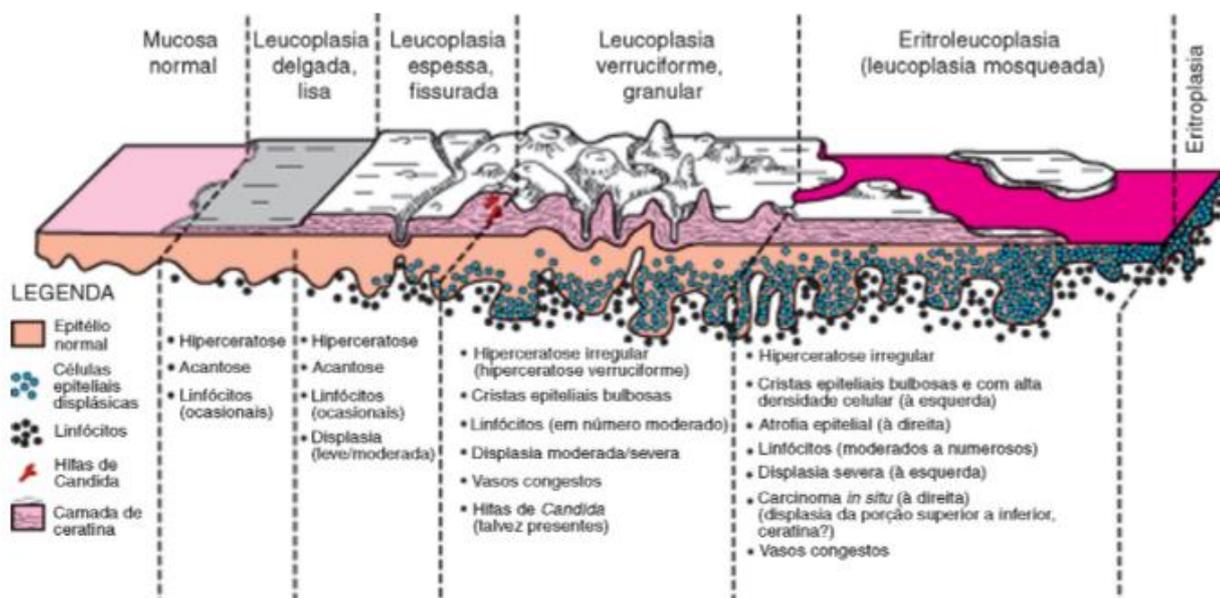


Figura 9. Leucoplasia. Esquema composto representando as várias fases ou apresentações clínicas da LO, com as respectivas alterações histopatológicas subjacentes esperadas. As lesões apresentam potenciais crescentes de transformação maligna à medida que suas apresentações clínicas aproximam-se das observadas à direita. (Adaptado de Bouquot e Gnepp, 1991).

Atualmente, o prognóstico e a abordagem terapêutica para LO baseia-se no grau de displasia presente (Reibel, 2003).

A displasia epitelial oral pode ser considerada como fenótipos morfológicos de diferentes etapas da progressão de um tecido normal para um tecido malignizado. A OMS classificou a displasia epitelial em 2003 como hiperplasia, leve (Figura 10), moderada (Figura 11) e severa ou carcinoma *in situ* (Figura 12). Esta classificação é feita de acordo com a presença de severidade da atipia celular e das características da arquitetura celular com base na espessura de camada displásica em comparação a altura epitelial total (MacDonald, 2003).

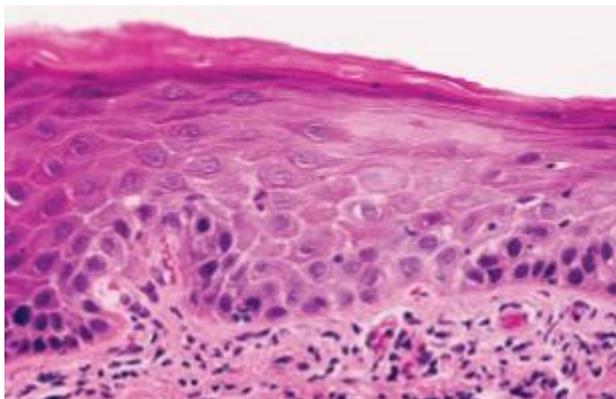


Figura 10. Displasia epitelial leve. Núcleos hiper cromáticos e levemente pleomórficos observados nas camadas basal e parabasal do epitélio escamoso estratificado. (Adaptado de Neville *et al.*, 2009).

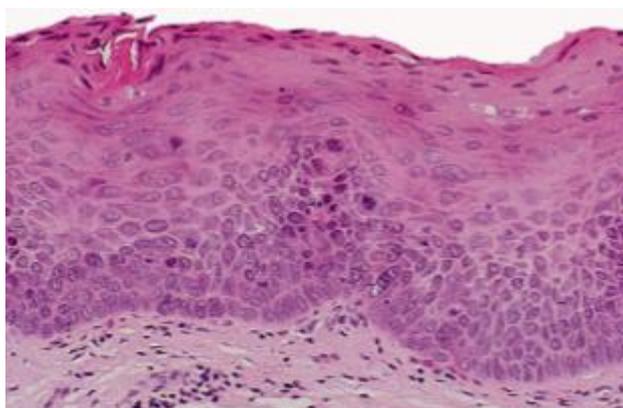


Figura 11. Displasia epitelial moderada. As alterações displásicas estendem-se até a metade do epitélio e são caracterizadas por hiper cromatismo nuclear, pleomorfismo e aumento da densidade celular. (Adaptado de Neville *et al.*, 2009).

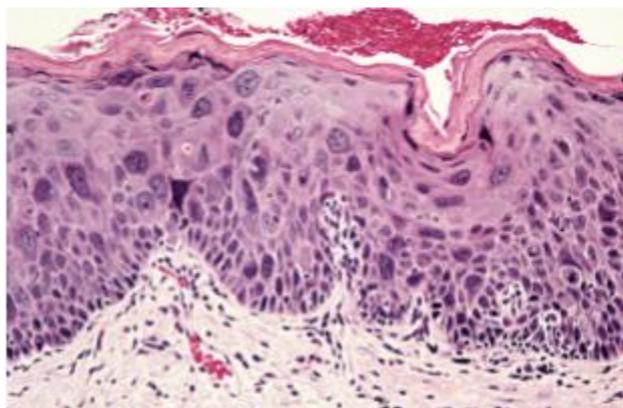


Figura 12. Displasia epitelial severa. Epitélio exibindo acentuado pleomorfismo, hiper cromatismo e figuras de mitose dispersas. As células atípicas estão presentes na maior parte da espessura do epitélio. (Adaptado de Neville *et al.*, 2009).

Em 2005, a OMS considerou características da arquitetura e mudanças citológicas para determinar grau de displasia. Dentre elas estão:

- Critério da arquitetura: epitélio estratificado irregular; perda de polaridade das células basais; cristas epiteliais em forma de gota; aumento do número de mitoses; mitoses superficiais anormais; queratinização prematura em células individuais e pérulas de queratina dentro das cristas epiteliais.
- Critérios citológicos: variação anormal do tamanho do núcleo; variação anormal do formato do núcleo; variação anormal do tamanho das células; relação núcleo/citoplasma maior; aumento do tamanho do núcleo; mitoses atípicas; aumento do número e tamanho do nucléolo e hiperchromatismo.

Um dos objetivos do sistema de graduação histopatológico de displasia epitelial oral da OMS (2005) é ajudar na previsão de transformação maligna da lesão. Porém, atualmente não há métodos objetivos para a classificação da displasia que dão resultados consistente e reproduzíveis (Sperandio *et al.*, 2002). A graduação é dificultada pela divisão arbitrária em distintas categorias um processo contínuo e progressivo que não possui fronteiras bem definidas, tornando-a artificial (Bosman, 2001).

Diante disso, foi feito um estudo retrospectivo baseado em dados de arquivo do laboratório de Patologia Oral da Faculdade de Odontologia da Universidade de Manchester em que Kujan *et al.* (2006) propuseram uma classificação complementar à proposta pela OMS para auxiliar nas decisões clínicas críticas por parte dos médicos, principalmente nas lesões consideradas moderadas. Essa classificação consiste em uma classificação dita binária em “baixo risco” e “alto risco” e é baseada nos mesmos critérios morfológicos da OMS (2005) (arquitetura e alterações citológicas). No entanto, foi estabelecida apenas duas classificações pois, dessa forma, sugeriu-se uma melhor graduação da displasia epitelial oral em comparação a múltiplos níveis.

A displasia de “alto risco” (com potencial de suscetibilidade para transformação maligna) é classificado quando há presença de pelo menos quatro mudanças arquitetônicas e cinco alterações citológicas. Já a displasia de “baixo risco” (sem potencial de suscetibilidade para transformação maligna) está relacionada com a observação

inferior a quatro mudanças de arquitetura ou inferior a cinco alterações citológicas. O objetivo desta classificação é auxiliar no prognóstico da lesão.

Embora a displasia possa estar presente em qualquer leucoplasia, cada apresentação clínica ou fase da leucoplasia possui um potencial diferente de transformação maligna (Neville *et al.*, 2009).

## **6. Aspeto Clínico vs Grau de Diferenciação Celular**

A graduação histológica da displasia epitelial é que norteia qual tratamento da LO será realizado. Porém, nem sempre o grau de displasia determina o risco de potencial de malignização. Sendo assim, o aspecto clínico é essencial para complementar o prognóstico e decisões terapêuticas (Warnakulasuriya, 2001).

Algumas características clínicas das lesões potencialmente malignas auxiliam na avaliação do risco e ajudam na correlação com as análises microscópicas (Warnakulasuriya, 2001).

Leucoplasias homogêneas apresentaram alterações celulares discretas, entretanto as não-homogêneas apresentam potencial histopatológico de displasia epitelial severa ou mesmo de carcinoma invasivo (Rodrigues *et al.*, 2000).

A aparência clínica da LO pode indicar alguma correlação com a probabilidade de aparecimento de displasia ou características malignas. Em geral, quanto mais espessa é a leucoplasia, maior é a chance de encontrar alterações displásicas ao exame histopatológico. Por conseguinte, uma leucoplasia verrucosa tem maior chance de apresentar com displasia em relação a uma leucoplasia homogênea espessa, e essa, por sua vez, tem maior probabilidade de se mostrar com esse tipo de alteração que uma leucoplasia homogênea fina (Neville e Day, 2002).

A taxa de transformação maligna de lesões de LO tem sido relatada ser 1-7% para leucoplasia espessa e 4-15% para leucoplasia nodular e verrucosa. Já as lesões eritroleucoplásicas possuem aproximadamente 50% de apresentarem algum grau de displasia epitelial ou carcinoma *in situ* e 50% de possuir carcinoma invasivo.

As eritroleucoplasias, como mencionado anteriormente, apresentam maior risco para apresentarem displasia ou carcinoma em relação a todas as variedades de leucoplasias (Neville e Day, 2002). Sendo que essa possui uma alta taxa de transformação maligna de 18-47% em comparação com as demais LO (Neville *et al.*, 2009).

No entanto, independente de seu aspecto clínico, não se pode deixar de realizar uma investigação aprofundada da lesão, pois mesmo aparentemente inofensivas podem possuir displasia significativa ou mesmo um carcinoma (Neville e Day, 2002).

## **7. Métodos Auxiliares de Diagnóstico**

Uma variedade de meios auxiliares de diagnósticos e técnicas adjuvantes estão disponíveis para auxiliar na triagem de pacientes com alterações cancerosas ocultas ou para avaliar o potencial biológico de lesões na mucosa (Lingen *et al.*, 2008).

A utilização de meios auxiliares de diagnóstico pode ajudar os profissionais a identificar as lesões orais com maior facilidade (Lingen *et al.*, 2008).

É necessária uma conduta de diagnóstico simples, segura e com possibilidade de detecção precoce da lesão. Na literatura é encontrado algumas metodologias auxiliares importantes. Dentre elas estão: Corante Azul de Toluidina, Citologia Esfoliativa e Sistema de Detecção de Luz.

### **7.1. Corante Azul de Toluidina**

O Azul de Toluidina (AT) é cientificamente denominado cloreto de telônio, é um membro do grupo tiazina dos corantes metacromáticos. O composto químico frequentemente é formado por um duplo sal de cloreto de zinco do grupo do cloreto de amino dimetil amino-tolufenotiazínico, o qual é parcialmente solúvel em água e em álcool, podendo ser utilizado de modo endovenoso, ou como corante superficial (Missmann, M. *et al.*, 2006).

Coloração vital é a coloração de células de tecidos vivos. Há duas técnicas de coloração vital, chamada fixação intravital no organismo vivo (*in vivo*) e coloração supravital fora do corpo, geralmente aplicada em preparação de célula individual (Culling

*et al.*, 1985). O AT é uma fixação intravital para ácidos nucleicos e tecidos anormais (Parlatescu *et al.*, 2014).

O AT foi aplicado pela primeira vez em 1963 in vivo por Reichart para o carcinoma de colo de útero *in situ* (Siddiqui *et al.*, 2006).

Esse corante tem sido utilizado durante décadas como um auxílio para a identificação de anormalidades na mucosa do colo do útero, bem como na mucosa da cavidade oral (Lingen *et al.*, 2008).

Na cavidade oral o método é utilizado para a orientação da seleção do local da biópsia (Parlatescu *et al.*, 2014). Esse método tem sido valorizado pelos cirurgiões como uma forma útil de demarcação da extensão da lesão antes da excisão (Lingen *et al.*, 2008).

O AT pode ser utilizado de 1% a 2% como enxaguamento oral, como uma aplicação local em forma aquosa, como solução de ácido fraco ou em formulação indefinida (Warnakulasuriya e Johnson, 1996).

Uma proposta para a explicação da coloração pelo AT pode ser pelo fato de o corante possuir uma maior afinidade a estruturas ácidas. Como as células displásicas e neoplásicas contêm ácidos nucleicos em maior quantidade que os tecidos normais, essas células ficam mais coradas (Gandolfo *et al.*, 2006).

A sensibilidade é a capacidade de um teste detetar a doença entre os portadores. Já a especificidade é a capacidade de um teste indicar resultado negativo quando não se há doença (Atman e Bland, 1994).

Estudos de sensibilidade realizado por Onofre *et al.* (2001) demonstraram que o AT possui uma alta sensibilidade na detecção de lesões orais malignas. Os valores obtidos variaram entre 84% a 100% sendo que não houve resultados falsos-negativos em lesões com diagnóstico histológico de carcinoma. Por outro lado, existem estudos em que houve resultados falso-negativo variando entre 0,9% e 5,5% do total da amostra e em outros houve uma percentagem de 58% de falso-negativo para displasia epitelial. Essa discrepância certamente deve ser pelo motivo de os autores considerarem a coloração apenas em sítios com a coloração pontilhada ou escura como positivo e as áreas que foram fracamente coradas como negativos (Onofre *et al.*, 2001).

No mesmo estudo de Onofre *et al.* (2001) foi observado que 100% dos resultados falso-positivos eram lesões que apresentavam ulcerações e eritema. Dessa forma, a especificidade de 44% passou a 65% após a remoção de fatores irritantes e inflamatórios e posterior aplicação do AT. A probabilidade das regiões não pigmentadas com o AT de não possuir displasia epitelial ou células atípicas foi de 88,9% e em casos de presença de carcinoma a probabilidade foi de 100%, pois não houve casos de falso-negativo nessas lesões.

No entanto, apesar dos resultados positivos expostos, o AT utilizado de forma tópica atinge somente as camadas celulares superficiais (de 3 a 4 camadas de células aproximadamente). Sendo assim, lesões malignas iniciais, as quais possuem revestidas por epitélio intacto não são coradas (Wysocki, 1999).

Portanto, é recomendado que qualquer lesão corada com AT deva ser considerada uma candidata à biópsia (Zhang *et al.*, 2005). Em vista disso o AT tem sido utilizado como corante vital para destacar lesões orais potencialmente malignas, identificar lesões iniciais que ao exame clínico poderiam não ser notadas com facilidade e ajuda também a selecionar o local de biópsia (Missmann, *et al.*, 2006).

A Figura 13 a seguir, ilustra a coloração de uma lesão clinicamente e histologicamente após a aplicação do AT em LO. A Figura 14, por sua vez, ilustra a detecção de uma lesão diagnosticada com displasia leve após a coloração com AT.

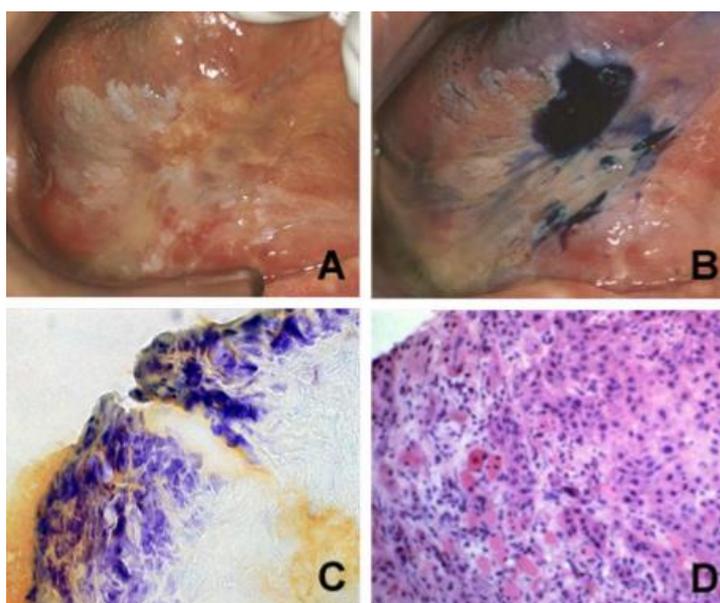


Figura 13. Coloração AT: Carcinoma de células escamosas: (A) Antes da coloração AT; (B) Depois da coloração AT; (C) Absorção nuclear e do epitélio profundo de AT (40x); (D) Coloração hematoxilina e eosina (20x). (Adaptado de Gandolfo *et al.*, 2006).

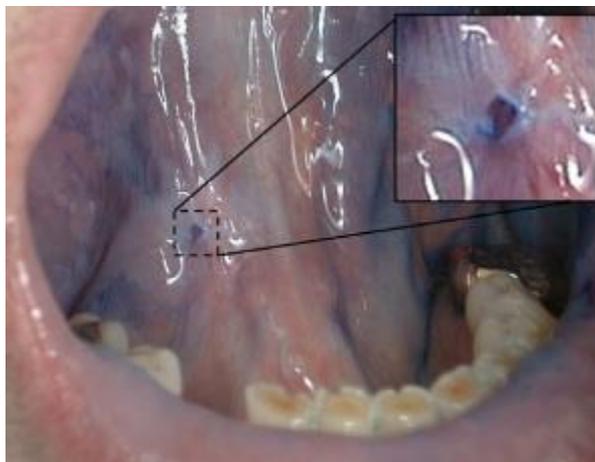


Figura 14. Coloração com AT da lesão posteriormente diagnosticada com displasia leve. (Adaptado de Epstein *et al.*, 2007).

## 7.2. Citologia Esfoliativa

Biópsia oral representa o padrão ouro para determinar a natureza da lesão em mucosa e concluir um diagnóstico. No entanto, a citologia esfoliativa tem sido utilizada para a avaliação de células epiteliais orais com a vantagem de ser menos invasiva e não necessitar de anestesia local em comparação com à biópsia (Epstein, 2002).

Células orais podem ser obtidas por diferentes sistemas físicos de raspagem da superfície da mucosa, por lavagem da cavidade oral ou por uma amostra de saliva (Mehrotra *et al.*, 2006).

O estudo citológico de células da cavidade oral é simples, rápido, não agressivo e relativamente indolor. Portanto, é considerado uma técnica bem aceita por parte dos pacientes e adequada para a aplicação de rotina em programas de rastreamento na população, tanto para análise precoce de lesões suspeitas, como também para pré e pós monitoramento do tratamento de lesões malignas confirmadas (Mehrotra *et al.*, 2006).

Foi demonstrado que a escova (Figura 15 e 16) é um instrumento adequado para a utilização desta técnica devido a facilidade de coleta e a qualidade da amostra citológica oral (Mehrotra *et al.*, 2006).



Figura 15. Técnica de escova de biópsia enfatizando sangramento pontual da mucosa oral. (Adaptado de Mehrotra *et al.*, 2006).



Figura 16. Imagem demonstrando espalhamento da amostra da escova de biópsia na lâmina. (Adaptado de Mehrotra *et al.*, 2006).

A citologia esfoliativa foi introduzida como um dispositivo de detecção de potencial cancro oral em 1999. Ela foi elaborada para ser utilizada em casos que o nível de suspeita de carcinoma seja baixo com base nas características clínicas. Entretanto, deve-se realizar a biópsia caso o resultado do exame dê atípico ou positivo, pois este método não fornece um diagnóstico definitivo (Lingen *et al.*, 2008).

Vários estudos têm mostrado resultados encorajadores em relação ao uso dessa técnica para a detecção de lesões pré-cancerosas e cancerosas orais com escova de biópsia. Em estudo prospetivo feito por Scuibba *et al.* (1999), com o intuito de estabelecer a sensibilidade e especificidade da técnica com escova de biópsia, ele considerou os

resultados das análises como “positivo”, “atípico” ou negativo. Em seus resultados foram detetados 100% de sensibilidade e 100% de especificidade se os resultados positivos fossem considerados indicativos de cancro e 92,9% de especificidade, se os resultados atípicos e positivos fossem considerados indicativo de cancro.

A Figura 17 ilustra um exame de citologia esfoliativa acusando alterações celulares.

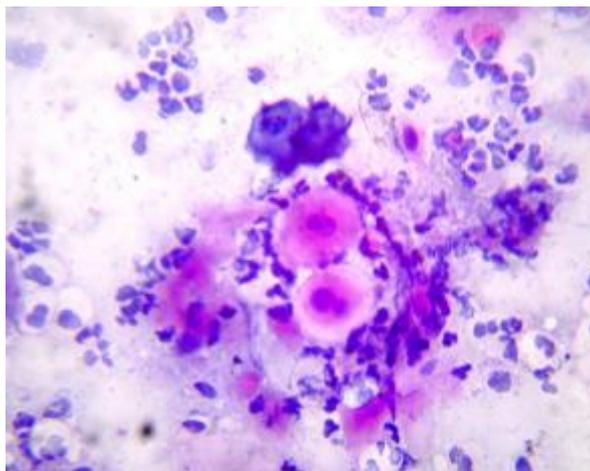


Figura 17. Microfotografia de espécime da biópsia de escova de um paciente com carcinoma oral de células escamosas mostrando uma célula binucleada com evidência de queratinização intracelular e extracelular em um fundo inflamatório (Coloração hematoxilina e eosina 400x). (Adaptado de Mehrotra *et al.*, 2006).

Esta técnica, apesar de suas limitações, permite que pacientes que possuam múltiplas lesões suspeitas na cavidade oral possam se beneficiarem. Desse modo, o paciente não precisaria se submeter a várias biópsias (Lingen *et al.*, 2008).

Todavia, a citologia esfoliativa associada a outras técnicas de diagnóstico sofisticadas, como citomorfometria, citometria de DNA e análises moleculares, tem demonstrado resultados eficientes. Por conseguinte, ela está sendo cada vez mais importante no diagnóstico precoce de cânceros orais (Mehrotra *et al.*, 2006).

### 7.3. Sistema de Detecção de Luz

Durante o desenvolvimento de lesões pré-malignas (displásicas) e alterações malignas, células epiteliais sofrem transformações que resultam em alterações nas atividades metabólicas celulares, em suas proliferações e morte (DeClerck, 2000).

Provavelmente tais alterações influenciam tanto na morfologia do tecido quanto em sua bioquímica que podem ser identificados por espectroscopia fluorescente. Esse método tem sido estudado para detetar lesões cancerosas e pré-cancerosas precocemente (Ramanujam, 2000).

Aproximadamente há 30 anos, foi observado que a autofluorescência de tecidos (fluorescência do tecido) poderia potencialmente ser utilizado para a detecção do cancro. Dessa maneira, existe interesse considerável em ambas tecnologias, espectroscopia fluorescente e imagem fluorescência, para o rastreio do cancro (Lingen *et al.*, 2008).

A espectroscopia fluorescente envolve a exposição do tecido a vários comprimentos de onda de excitação de modo que as diferenças sutis entre os tecidos normais e anormais podem ser identificados. Por outro lado, a imagem fluorescente envolve a exposição do tecido a um comprimento de onda específico de luz o qual resulta na autofluorescência de fluoróforos celulares após a excitação. A presença de alterações celulares irá alterar a concentração de fluoróforos, que irá afetar na dispersão e absorção da luz no tecido, resultando assim em alterações de cor que pode ser observada visualmente (De Veld *et al.*, 2005).

Baseando-se em dados disponíveis, verificou-se que tanto espectroscopia quanto a imagem foram excelentes em distinguir entre tecido normal e maligno. No entanto, verificou-se que a imagem poderia ser muito mais útil na detecção de novas lesões do que a espectroscopia pois este não era viável para averiguar toda a cavidade oral utilizando pequenas fibras óticas necessárias para a espectroscopia (Lingen *et al.*, 2008).

#### 7.3.1. Quimiluminescência

A quimiluminescência é baseada na fluorescência normal do tecido quando exposto a iluminação azul-branca de acordo com a Figura18 (Parlatescu *et al.*, 2014).

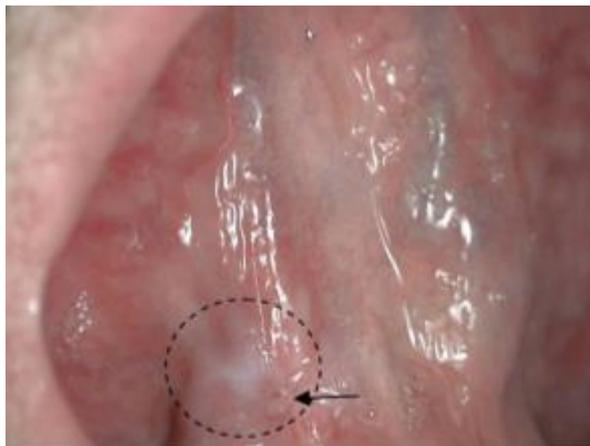


Figura 18. Vista clínica do ventre da língua sob luz incandescente. (Adaptado de Epstein *et al.*, 2007).

Ela foi usada por muitos anos como coadjuvante no exame de mucosa cervical. Recentemente esta tecnologia foi adaptada para a utilização em cavidade bucal com o objetivo de melhorar a identificação de anormalidades na mucosa oral (Lingen *et al.*, 2008).

Foi proposto o uso do ácido acético antes da aplicação do método de quimiluminescente para realçar as regiões displásicas (Huber *et al.*, 2004)

O método consiste em aplicação prévia sobre a mucosa de um agente que promova leve desidratação do citoplasma celular com a solução de ácido acético. As lesões orais brancas, por sua vez, são evidenciadas, pois a ação da solução ácida promove alterações no padrão de refração da luz celular. Isso ocorre apenas onde há atipia celular, isto é, alteração em relação núcleo/citoplasma (núcleo proporcionalmente maior que o citoplasma) em relação à célula normal (Farah e McCullough, 2007).

Após este processo, deve-se agitar o dispositivo que contém os compostos da reação de quimiluminescência causando a ativação da luz e posteriormente é aplicado sobre a mucosa. Por meio também da modificação do padrão de refração de luz que as células atípicas apresentam em relação às células normais, a luz da reação é absorvida pelo epitélio sadio e refletida pelo tecido alterado (Figura 19). Desse modo, a lesão suspeita se confirmada com presença de displasia, mostra-se mais branca e evidente o que favorece a avaliação e delimitação de seus bordos, bem como a seleção do melhor sítio de biópsia (Farah e McCullough, 2007).

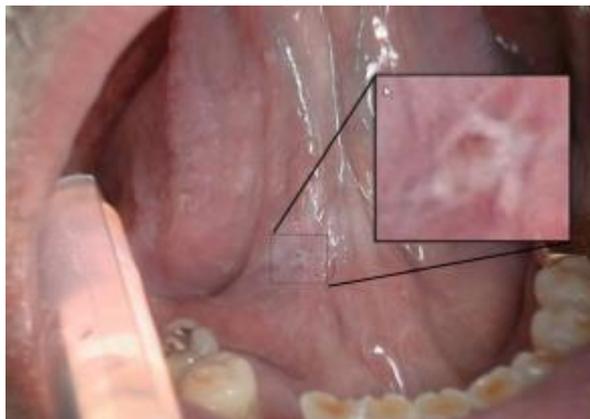


Figura 19. Após lavagem com ácido acético, área visualizada sob iluminação quimioluminescente. (Adaptado de Epstein *et al.*, 2007).

A quimiluminescência para uso na cavidade oral é comercializada sob o nome de ViziLite Plus e MicroLux DL. De acordo com Lingen *et al.* (2008) nos dois sistemas o paciente deve enxaguar a cavidade bucal previamente ao exame com uma solução de ácido acético a 1% com o objetivo de remover os detritos presentes na superfície. Dessa forma, há uma promoção de um aumento da visibilidade dos núcleos das células epiteliais, possivelmente devido a leve desidratação celular.

Posteriormente é feito um exame visual direto usando a fonte de luz azul-branco. A diferença entre ambos é que a ViziLite Plus utiliza um pacote de luz quimioluminescente descartável, enquanto a unidade MicroLux oferece uma fonte de luz reutilizável, movido a bateria. Sob iluminação azul-branco o epitélio normal aparece levemente azulada, enquanto o epitélio anormal aparece nitidamente branco. ViziLite Plus também fornece uma solução de AT que ajuda na marcação de uma lesão acetobranco para biópsia subsequente, uma vez que a luz fonte é removida (Lingen *et al.*, 2008).

### 7.3.2. VELscope® (Visually Enhanced Lesion Scope, emissão estreita de fluorescência de tecidos)

O sistema de VELscope® é dispositivo manual desenvolvido por LED Diagnóstico Médico (“LEDMD”) em associação com cientistas da Agência de Câncer Britânica da Columbia (BCCA). Ele detecta a perda de fluorescência visível ou não visível de lesões orais de alto risco aplicando fluorescência direta. A perda da fluorescência reflete uma mistura complexa de alterações na distribuição do tecido intrínseco de fluoróforos (Trullenque-Eriksson *et al.*, 2009).

VELscope® é uma fonte de luz reutilizável que emite um cone de luz no espectro azul (400-460nm) para cavidade oral, provocando fluoróforos no tecido oral com o objetivo de excitar e fluorescer. A fluorescência da mucosa oral pode ser visualizada diretamente através de um filtro de banda estreita incorporado dentro da peça de mão proporcionando uma visualização direta da fluorescência (McNamara *et al.*, 2012). A mucosa normal emite uma autofluorescência verde pálido quando visto através do filtro seletivo (banda estreita). Em contraste, tecidos anormais ou suspeitos apresentam diminuição dos níveis normais de autofluorescência e aparecem escuras em relação aos tecidos saudáveis circundantes (Figura 20) (Lane *et al.*, 2006).

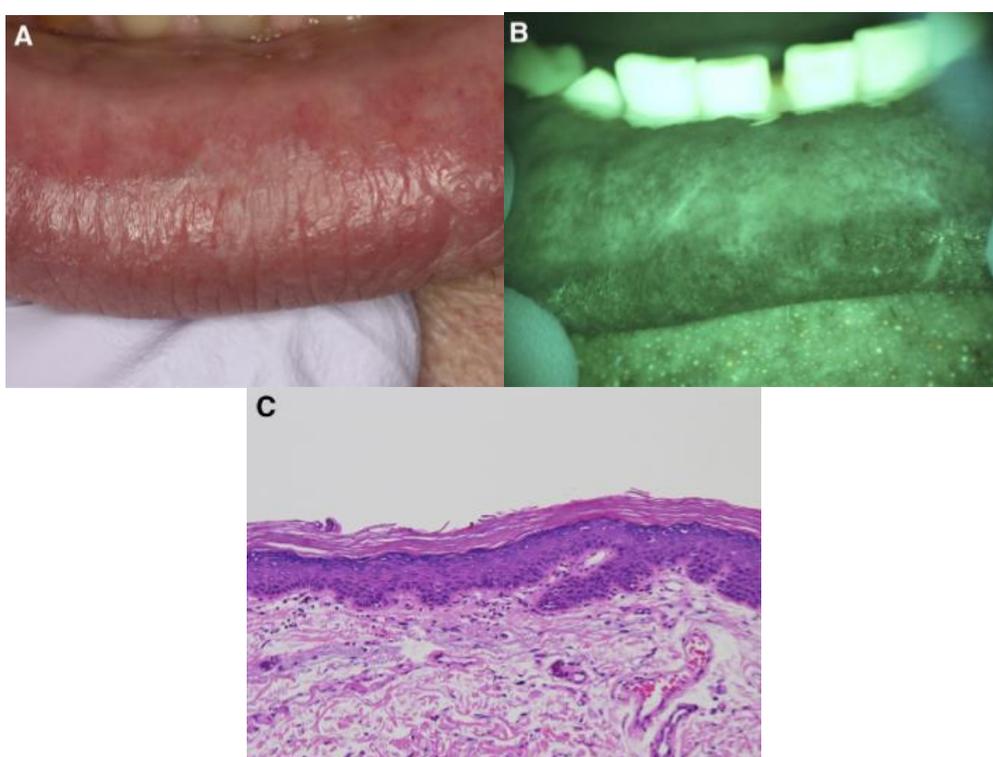


Figura 20. Exame convencional oral mostrando placa branca homogênea da mucosa labial inferior e vermelhão do lábio (A). A mesma lesão examinada com VELscope demonstrando autofluorescência retida (B). Achados clínicos e histopatológicos foram consistentes com displasia epitelial moderada (coloração hematoxilina e eosina; aplicação de 20x). (Adaptado de McNamara *et al.*, 2012).

Esse método discrimina mucosa oral normal de displasia epitelial severa, carcinoma *in situ* e carcinoma de células escamosas (Lane *et al.*, 2006). Estudos preliminares confirmam que o VELscope® pode auxiliar na detecção de lesões ocultas na mucosa oral, assim como na identificação da extensão da displasia epitelial (McNamara *et al.*, 2012).

Segundo estudo realizado por Awan *et al.* (2011), foram demonstradas uma sensibilidade relativamente elevada (84%) e uma baixa especificidade (15%) na discriminação de lesões de alto risco (com displasia) a partir de lesões benignas. Portanto, ainda é necessário a realização de mais estudos para avaliar o papel do VELscope® como um sistema de exame oral na atenção primária.

## **8. Formas de Tratamento**

O manejo das desordens orais potencialmente malignas não é bem definido. No entanto, existem certos consensos em relação a conduta adotada. Redução dos fatores de risco, remoção completa da lesão e monitoramento contínuo são medidas incluídas nesse consenso (Jerjes *et al.*, 2011).

A razão para a remoção da lesão tem o objetivo de prevenir uma possível transformação maligna. Essa remoção é usualmente empregada através de excisão cirúrgica, cirurgia a laser, criocirurgia e terapia fotodinâmica. O uso de retinoides também parece ter um papel importante no manejo (Jerjes *et al.*, 2011).

A seguir serão citadas algumas das terapias empregadas atualmente como forma de tratamento para LO e que são bastante documentadas na literatura encontrada, tais como excisão cirúrgica (biópsia), cirurgia a laser, crioterapia, terapia fotodinâmica e agentes quimiopreventivos.

### **8.1. Excisão cirúrgica (biópsia)**

A LO deve ser confirmada por biópsia da mucosa (Chen *et al.*, 2007). A biópsia é um procedimento cirúrgico realizado para estabelecer um diagnóstico claro de uma lesão e para confirmar uma suspeita de um diagnóstico clínico. Ela pode ser incisional ou excisional. A primeira remove uma ou mais amostras do tecido para estabelecer uma terapia eficaz a partir do diagnóstico histológico. A segunda consiste na remoção completa da lesão, portanto, é por si só um procedimento de diagnóstico e terapêutico (Tambuwala *et al.*, 2014).

Embora a cirurgia seja a primeira escolha no tratamento de LO pela maioria dos especialistas relevantes, a hipótese de que a remoção de lesões potencialmente malignas

orais por diferentes técnicas cirúrgicas (bisturi, laser e criocirurgia) possa prevenir o aparecimento de cancro oral continua sem comprovação (Lodi e Porter, 2008).

A excisão cirúrgica é recomendada na presença de displasia epitelial (presença de displasia epitelial moderada e grave). Relatos de taxa de recorrência depois do tratamento cirúrgico variam entre 10% e 35% (Ribeiro *et al.*, 2010).

Num dos poucos estudos que comparam a incidência de cancro em um grupo submetido a excisão cirúrgica com diferentes técnicas e um grupo sem tratamento, os autores concluíram que não houve óbvia diferença na taxa de transformação maligna entre os pacientes que receberam quaisquer tratamentos cirúrgicos (5,5%, 5/91) e aqueles que não o fizeram (7,8%, 4/51) (Saito *et al.*, 2001).

Entretanto, apesar de ainda não haver evidências de sucesso dessa terapia, ela é importante instrumento diagnóstico histológico, portanto, não deve ser abandonada (Lodi e Porter, 2008).

Recidiva e ocorrência de novas lesões após excisão tem sido um problema associado com a excisão cirúrgica (Pandey *et al.*, 2001).

Em uma série de 61 pacientes tratados cirurgicamente com LO, registrou-se recorrência em 12 (20%) pacientes e transformação maligna em 3 (5%) pacientes durante um período médico de acompanhamento durante 3,9 anos (Vedtofte *et al.*, 1987).

A monitorização rigorosa após a intervenção deve ser realizada, para que possíveis recidivas possam ser detetadas precocemente. Além disso, é indispensável um controlo do hábito de tabaco e álcool após a intervenção com o intuito de prevenir possíveis recidivas (Pandey *et al.*, 2001).

Apesar da falta de provas, a ressecção cirúrgica continua a ser a melhor prática no manejo de LO independente do grau histológico (Gomes e Gomez, 2013).

## 8.2. Cirurgia a Laser

Entre as diferentes técnicas cirúrgicas propostas para o tratamento de LO, a cirurgia a laser tem recebido uma atenção especial ao longo dos últimos 30 anos (Lodi e Porter, 2008).

O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), NdYAG e laser KTP têm sido empregados com várias técnicas de vaporizações ou excisão para tratamento de LO (Ishii *et al.*, 2003).

A excisão a laser de CO<sub>2</sub> ou ablação tem sido uma modalidade de tratamento aceita desde o início dos anos 1970. O mecanismo de ação desse laser consiste na aplicação da energia do laser o qual aumenta a temperatura do tecido alvo em excesso de 100°C, resultando na conversão de água em vapor. A destruição do tecido após a cirurgia a laser é proporcional ao ajuste da potência e duração da aplicação (Meltzer, 2007).

Os dispositivos a laser emitem energia através da radiação cromática, no espectro infravermelho ou ultravioleta. Ela produz onda de fase e transmissão de calor quando focado a curta distância. Em cirurgia oral, os lasers são frequentemente utilizados também na realização de biópsia (Tuncer *et al.*, 2002).

Porém, quando a excisão é feita por essa técnica, a cauterização das bordas do espécime pode impedir a avaliação de seu comprometimento nesta região no exame histopatológico. Em relação à ablação, a principal crítica é devido ao motivo de que o tecido é vaporizado e não fica disponível para o exame histopatológico. Desse modo, múltiplas biópsias devem ser realizadas antes da excisão para determinar a histologia da lesão (Meltzer, 2007).

Infelizmente, assim como a técnica de excisão cirúrgica convencional, a cirurgia a laser também tem relato de recidivas. De acordo com o estudo de Schoelch *et al.* (1999), de 70 pacientes tratados com CO<sub>2</sub> e NdYAG, 21 (30%) dos pacientes desenvolveram recidivas locais e 5 (7,1%) desenvolveram carcinoma de células escamosas.

As principais vantagens da cirurgia a laser é o potencial efeito hemostático, o potencial para a contração limitada do tecido, cicatrizes pós-terapia e redução da dor pós-operatória, do inchaço e de infecções (Ishii *et al.*, 2003).

A recuperação morfológica e funcional após a cirurgia a laser é superior quando comparada com cirurgias convencionais de instrumentação (bisturi) e eletrocautério. Entretanto, apesar da regeneração epitelial e da reepitelização da ferida serem atrasadas nas técnicas convencionais, o resultado não é prejudicado (Tambuwalla *et al.*, 2014).

Portanto, apesar dessa técnica ser bem aceita para o tratamento de LO, a cirurgia a laser deve sempre ser precedida de confirmação histopatológica da natureza da lesão pois a confirmação da lesão excisada não é possível ser feita se a técnica de ablação tenha sido empregada previamente (Lodi e Porter, 2008).

### 8.3. Crioterapia

Crioterapia é definida como aplicação terapêutica de temperaturas extremamente baixas (Ishida e Ramos-e-Silva, 1998).

Já a criocirurgia pode ser definida como um método de destruição de lesão por rápido congelamento e descongelamento *in situ*. A desvitalização do tecido mole forma uma escara abaixo o qual a reepitelização e a regeneração do tecido ocorre (Prasad *et al.*, 2009).

Arnott foi a primeira pessoa a desenvolver um instrumento para a aplicação de frio como um agente terapêutico. Ele utilizou esta modalidade de tratamento de cancro e foi ele quem desenvolveu a criocirurgia que conhecemos atualmente (Bradley, 1986).

A criocirurgia é amplamente utilizada nas áreas de dermatologia, oftalmologia, otorrinolaringologia, neurocirurgia e cirurgia geral. No campo da cirurgia maxilofacial ela é utilizada para tratar cancro, lesões pré-malignas, cistos mucosos e neuralgia do trigêmeo (Bradley, 1986).

Os sistemas de criocirurgia são classificados em “fechado” e “aberto”. O sistema fechado oferece um maior grau de controlo da temperatura, porém, requer um complexo, delicado e dispendioso equipamento. Já o sistema aberto é a aplicação direta de um agente criogênico à lesão com um cotonete (Yeh, 2000).

No sistema aberto é mais difícil manter uma temperatura baixa constante nos tecidos lesionados durante todo o período de tratamento. No entanto, ele não necessita de

equipamento caro. A aplicação pode ser feita com cotonete de algodão ou um aparato portátil de spray (Lin *et al.*, 2011).

Terapia fria é utilizada para tratamento de várias lesões. A baixa temperatura possui vários efeitos sobre os tecidos. O efeito dependerá da severidade do congelamento que pode variar de inflamatório a destrutivo (Amanat *et al.*, 2014). Lesões de leucoplasia podem ser tratadas pelo sistema aberto de crioterapia como pode ser observado na Figura 21 (Yeh, 2000).



Figura 21. (D) Lesão de LO na mucosa bucal esquerda antes da crioterapia (D1), após um tratamento de crioterapia mostrou resposta parcial (D2), e após três tratamento de crioterapia mostrou regressão completa (D3). (Adaptado de Lin *et al.*, 2011).

Uma aplicação de temperatura extrema de frio é seguida por morte celular e subsequente necrose do tecido devido ao rompimento celular, desidratação, inibição enzimática e desnaturação proteica. Posteriormente, nos sítios congelados onde a necrose acontece cura-se sem sangramento ou cicatriz (Kawczyk-Krupka *et al.*, 2012).

Os mecanismos para a destruição de células, após a criocirurgia, envolvem uma combinação de efeitos diretos e indiretos. Os efeitos diretos consistem de formação intracelular e extracelular de cristais de gelo, que por sua vez, rompem as membranas celulares. Já os efeitos indiretos incluem alterações vasculares que conduzem a necrose isquêmica do tecido tratado e a respostas imunológicas que causam danos celulares por um mecanismo imunológico citotóxico (Rezende *et al.*, 2014).

O epitélio displásico é mais sensível ao dano induzido pela crioterapia no tecido pois possui espaços intercelulares mais amplos que formam mais cristais de gelo extracelular durante terapia, aumentando assim a ruptura física das membranas celulares. Além disso, as células em proliferação parecem também apresentar uma melhor resposta à terapia em comparação a células em repouso. Isso pode explicar por que as lesões de leucoplasia com displasia necessitam de menos tratamento de crioterapia para alcançar a

regressão completa em comparação com as lesões de leucoplasia sem displasia (Lin *et al.*, 2011).

Entretanto, uma camada de queratina mais espessa na superfície da LO pode atuar como uma barreira contra a transmissão de baixas temperaturas para as células epiteliais lesionadas, dificultando assim o resultado do tratamento. Além disso, há sítios com uma maior necessidade de tempo de tratamento devido uma maior vascularização que também impede o alcance de baixas temperaturas, como por exemplo a língua (Lin *et al.*, 2011).

A crioterapia apresenta várias vantagens incluindo o tratamento sem sangue, uma incidência baixa de infecções secundárias e uma relativa ausência de cicatriz e dor (Yeh, 2000). Essa terapia é considerada simples, segura, fácil, conservadora, eficaz e uma modalidade alternativa para o tratamento de LO (Lin *et al.*, 2011).

#### 8.4. Terapia Fotodinâmica

A terapia fotodinâmica (TFD) é um instrumento cirúrgico minimamente invasivo direcionada com sucesso em distúrbios pré-malignos e malignos de cabeça e pescoço, trato gastrointestinal, pulmões e pele com grande redução da morbidade e desfiguramento (Hopper, 2000; Jerjes *et al.*, 2007, Jerjes *et al.*, 2009).

A técnica é simples, pode ser comumente realizada em ambulatórios e é muito aceita pelos pacientes. O TFD utiliza agentes fotossensibilizadores que se acumulam seletivamente no tecido alvo que resulta em destruição celular (Hopper, 2000; Jerjes *et al.*, 2007, Jerjes *et al.*, 2009).

A aplicação tópica ou sistêmica de agentes químicos chamados fotossensibilizantes podem tornar os tecidos patológicos fluorescentes quando expostos a comprimento de onda específico (Ebihara *et al.*, 2003).

O TFD é uma reação fotoquímica fria e os agentes fotossensibilizantes são de baixa toxicidade. Esta terapia pode ser aplicada antes ou depois de qualquer uma das modalidades de tratamentos convencionais (cirurgia, radioterapia, quimioterapia). O tratamento pode ser aplicado no mesmo local quantas vezes forem necessárias sem toxicidade cumulativa (Hopper, 2000; Jerjes *et al.*, 2007, Jerjes *et al.*, 2009).

Os únicos três fotossensibilizantes de primeira geração a ter aprovação recebida pelas autoridades reguladoras são Photofrin (porfímero de sódio), de 5-ALA (5-ácido aminolaevulínico) e verteporfina (BPD, derivado de benzoporfirínico) (Hopper, 2000; Jerjes *et al.*, 2007, Jerjes *et al.*, 2009).

O 5-ALA é o único fotossensibilizador que pode ser aplicado por via tópica, todos os demais devem ser administrados por via endovenosa. A vantagem da aplicação tópica é a completa ausência de fotossensibilidade e devido ao fato de que pacientes tratados por 5-ALA não precisam evitar a exposição a luz após o tratamento. Quanto à desvantagem é que o tratamento alcança apenas até 2mm de profundidade. Portanto, apenas lesões superficiais podem ser tratadas com essa terapia (Jerjes *et al.*, 2011).

O TFD envolve dois componentes individualmente não tóxicos, luz e fotossensibilizador, que trabalham em conjunto para induzir a destruição celular e tecidual. Essa técnica é baseada na administração de fotossensibilizador para tornar o tecido do tumor sensível à luz a um comprimento de onda específico. Quando o fotossensibilizador é ativado no tecido por uma onda específica de luz, ele transfere energia da luz para a molécula de oxigênio, resultando em geração de espécies reativas de oxigênio (ROS). Dessa forma, existem três mecanismos principais que o TFD pode atuar contra as células tumorais. O primeiro deles é a morte direta de células tumorais pelo ROS. A segunda forma é que o TFD pode danificar a vascularização associada ao tumor causando formação de trombos e subsequente infarto do tumor. O terceiro mecanismo é pelo fato de que o TFD pode induzir uma resposta imunológica contra as células tumorais (Dolmans *et al.*, 2003).

Em seu estudo, Pietruska *et al.* (2014) relatou significativa redução do tamanho de lesões de leucoplasia após a terapia fotodinâmica (em média 53,8%).

A profundidade do efeito que pode ser alcançado depende do fotossensibilizador utilizado. O tempo de tratamento varia consideravelmente e está relacionado com a absorção de luz pelo fotossensibilizador e a eficiência de transferência de energia da luz para o oxigênio (Hopper, 2000; Jerjes *et al.*, 2007, Jerjes *et al.*, 2009). O número médio de tratamento verificou-se estar associado com a aparência, profundidade, cor, displasia epitelial e espessura da camada de queratina sobre a superfície da lesão (Yu *et al.*, 2008).

A vantagem dessa técnica é devido ao caráter minimamente invasivo e localizado do tratamento e a não danificação a estruturas colagenosas do tecido. Além disso, o TFD é mais conveniente para os pacientes, menos doloroso, mais estético e pode ser uma boa alternativa para tratamento de lesões multifocais em uma única sessão (Kawczyk-Krupka *et al.*, 2012).

#### 8.5. Agentes Quimiopreventivos

A quimioprevenção tenta reduzir a incidência de cancro por prescrever agentes farmacológicos e suplementação dietética com vitaminas, minerais, oligoelementos e outras substâncias bioativas (Anderson *et al.*, 2001).

A vitamina A, retinoides (compostos sintéticos derivados da vitamina A) e seus análogos tem sido utilizado topicamente e sistemicamente no tratamento de LO. Estes elementos têm o potencial antioxidante para eliminar espécies de radicais livres (Gorsky e Epstein, 2002; Van Der Waal, 2009).

Alguns autores afirmam que a leucoplasia homogênea pode regredir devido a aplicação local ou administração de forma sistêmica de ácido fólico, beta-caroteno, retinoides, bleomicina e vitaminas A, PP, B2, C e D3 (Kawczyk-Krupka *et al.*, 2012). Segundo Epstein (2002), o tratamento tópico de leucoplasia com ácido retinóico pode ajudar no controle de lesões persistentes e recorrentes.

Porém, infelizmente, a toxicidade é relatada em muitos agentes utilizados na quimioprevenção (Scully e Boyle, 1992). Dentre os sintomas incluem dor de cabeça, alopecia, carotenodermia, eritema facial, descamação, conjuntivite, fotofobia, danos ao fígado, entre outros (Warnakulasuriy, 2009).

Os retinoides que estão disponíveis para a utilização clínica são tretinoína (ácido all-transretinóico), isotretinoína (ácido 13-cis-retinóico) e etretinato (éster etílico de retinóide) (Anderson *et al.*, 2001).

A vitamina A e carotenoides (em especial o beta-caroteno), vitamina C e selênio parecem ser protetores contra a maioria dos cancros epiteliais e suas lesões precursoras, e a maior parte do efeito é atribuível às suas atividades antioxidantes. Os antioxidantes agem por redução de radicais livre que podem causar mutações do DNA e mudanças na

peroxidação lipídica das membranas celulares. Outras funções dos antioxidantes seriam a modulação do metabolismo carcinogénico, manutenção da diferenciação celular apropriada, inibição da proliferação celular e expressão do oncogene, manutenção da função imune e inibição da formação de carcinogéneos endógenos (Amarasinghe *et al.*, 2013).

A vitamina A desempenha um papel essencial na diferenciação normal dos tecidos epiteliais. O beta-caroteno, um percurso da vitamina A, é uma ocorrência natural de carotenoide, não-tóxico, que serve como importante fonte de vitamina A. Ele está presente em vegetais de folha verde, brócolos e capsicum (pimentões e pimentas). Embora menos eficaz quanto ao seu efeito antioxidante, ele é utilizado como suplemento nutricional para corrigir deficiência de vitamina A, possuindo menos efeitos colaterais e sendo considerado mais seguro. Os resultados relatados com o uso de beta-caroteno por si só ou em combinação com outros antioxidantes (vitaminas C e E) têm tido bastante sucesso (Sankaranarayanan e Mathew, 1997).

O beta-caroteno tem mostrado ser eficaz contra LO com uma taxa de resposta variando de 15-71%. A principal ação do beta-caroteno é a conversão em vitamina A e retinoides. Ele, por sua vez, também possui um potencial antioxidante para eliminar espécies de radicais livres. Além disso, também aumenta da imunidade, melhora a comunicação entre as células e induz a morte celular programada (Warnakulasuriy, 2009).

A razão pela qual frutas e legumes são tão benéficos é por causa de suas variedades de compostos. Bem como vitaminas e minerais, frutas e legumes também contêm muitos componentes complexos de planta, particularmente carotenoides e fitoquímicos, incluindo flavonóides, glucosinolatos e fitoestrogênios que também possuem potencial antioxidativo (Warnakulasuriy, 2009).

Portando, de acordo com a OMS (2003) é recomendado o consumo de pelo menos 400g de frutas e vegetais por dia com o intuito de prevenir desenvolvimento de cancro.

Além disso, o chá verde e preto também tem sido relatado ser importante da prevenção contra muitos tipos cancros por possuir polifenóis que também são agentes antioxidantes (Amarasinghe *et al.*, 2013).

Entre os pacientes tratados com ácido retinóico tópico foi relatada a taxa de resposta completa entre 10% a 27% dos pacientes e a resposta parcial foi de 54% a 90% dos pacientes. Já a recorrência da lesão foi reportada como certa de 50% após retirada do ácido retinóico (Gorsky e Epstein, 2002).

Numa atualização de revisão de Cochrane, nove relatos de estudo randomizado e controlado de teste da terapia médica para o manejo de leucoplasia foram encontrados após uma extensa pesquisa bibliográfica. Os agentes quimiopreventivos empregados incluem vitamina A e retinoides locais e sistêmicos, beta-caroteno sistêmico, licopeno (um carotenoide), cetorolac (um colutório), bleomicina local e uma mistura de chá utilizado tanto topicamente quanto sistemicamente (Lodi *et al.*, 2006).

Apenas dois dos estudos relataram dados úteis sobre transformação maligna de LO e nenhum dos três tratamentos testados foram de benefício quando comparado com placebo (bleomicina tópica, vitamina A sistêmica e beta-caroteno sistêmico). Dois dos estudos mostraram um pequeno, porém, significativo para o tratamento sistêmico de beta-caroteno ou licopeno quando comparados com os controles. A vitamina A e retinoides também foram de algum benefício.

Entretanto, as taxas de recorrência entre os que responderam ao tratamento foram altas (20-64%) bem como efeitos adversos (100%). A conclusão atual da revisão sistemática é que nenhum dos tratamentos investigados são eficientes na prevenção da transformação maligna de LO.

Infelizmente, um inconveniente grave da quimioprevenção é a recaída da lesão após suspensão do tratamento (Gomes e Gomez, 2013).

### III CONCLUSÃO

O diagnóstico precoce de LO é fundamental por parte dos médicos dentistas, pois quando detetada é possível evitar a evolução dessa lesão para uma transformação maligna.

Deve-se sempre ressaltar quais são os fatores de risco aos pacientes, para que, assim, possam ter conhecimento e também uma motivação para evitá-los. Encorajar o combate dos principais fatores de risco (tabaco e consumo abusivo de álcool) faz parte da atuação e competência dos médicos dentistas. Mas para isso, essa abordagem precisa ser implementada em forma de campanhas ou protocolo de atendimento. Além disso, é essencial explicar a importância de buscar apoio profissional em caso de alteração da normalidade de mucosa, assim como em de qualquer suspeita.

Apesar de não existirem tratamentos definitivos e satisfatórios para LO, o médico dentista deve estar sempre se atualizando quanto às alternativas de diagnóstico, sobre as alternativas de tratamento, identificação dos fatores de risco causais e principalmente suspeitar da lesão em questão e encaminhar seus pacientes a profissionais especializados.

Geralmente as lesões de LO são assintomáticas e muitas vezes negligenciadas, por isso, examinar os tecidos orais a cada consulta deve fazer parte da rotina de todos os médicos dentistas e clínicos gerais. Por consequência, existirá uma contribuição no aumento do número de detecção precoce desta lesão e uma diminuição da taxa de transformação maligna. É importante frisar que pacientes com histórico de LO e que fazem parte do grupo de pacientes de risco devem ser regularmente monitorados com maior atenção já que a probabilidade de desenvolvimento e recidiva da lesão é maior.

#### IV REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadie, W.M. *et al.* (2015). Optimal management of proliferative verrucous leukoplakia: a systematic review of the literature. *Otolaryngology - Head Neck Surgery*; 153(4): 504-11.
- Albuquerque, R. *et al.* (2012). A pioneering epidemiological study investigating the incidence of squamous cell carcinoma of tongue in a Portuguese population. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*; 17(4): e550–e554.
- Amanat, D. *et al.* (2014). Comparing the effects of cryotherapy with nitrous oxide gas versus topical corticosteroids in the treatment of oral lichen planus. *Indian Journal of Dental Research*; 25(6): 711-6.
- Amarasinghe, H.K. *et al.* (2013). Diet and risk of oral potentially malignant disorders in rural Sri Lanka. *Journal of Oral Pathology and Medicine*; 42(9): 656-62.
- Anderson, W.F., Hawk, E. e Berg, C.D. (2001). Secondary chemoprevention of upper aerodigestive tract tumours. *Seminars in Oncology*; 28: 106-20.
- Atman, D.G. e Bland, J.M. (1994). Statistics notes: diagnostic tests 1: sensitivity and specificity. *British Medical Journal*; 308: 1552.
- Awan, K.H., Morganb, P.R. e Warnakulasuriya, S. (2011). Evaluation of an autofluorescence based imaging system (VELscope™) in the detection of oral potentially malignant disorders and benign keratosis. *Oral Oncology*; 47: 274–277.
- Bagan J.V. *et al.* (2007). Lack of association between proliferative verrucous leukoplakia and human papillomavirus infection. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*; 65: 46–9.
- Bagan J.V. *et al.* (2008). Epstein–Bar virus in oral proliferative verrucous leukoplakia and squamous cell carcinoma: a preliminary study. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*; 13: E110-E113.

- Bosman, F.T. (2001). Dysplasia classification: pathology in disgrace? *Journal of Pathology*; 94: 143–4.
- Bouquot, J.E. e Gnepp, D.R. (1991). Laryngeal precancer – a review of literature, commentary and comparison with oral leukoplakia. *Head and Neck*; 13: 488-497.
- Bouquot, J.E., Speight, P.M., Farthing, P.M. (2006). Epithelial dysplasia of the oral mucosa—Diagnostic problems and prognostic features. *Current Diagnostic Pathology*; 12: 11–21.
- Bradley, P.F. (1986). Cryosurgery of the maxillofacial region. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*; 27(6): 522.
- Brocklehurst, P.R., Baker, S.R. e Speight, P.M. (2010). A qualitative study examining the experience of primary care dentists in the detection and management of potentially malignant lesions. 2. Mechanics of the referral and patient communication. *British Dental Journal*; 208: E4.
- Campisi, G. *et al.* (2004). Proliferative verrucous vs conventional leukoplakia: no significantly increased risk of HPV infection. *Oral Oncology*; 40: 835–840.
- Chandu, A. e Smith, A.C. (2005). The use of CO2 laser in the treatment of oral white patches: outcomes and factors affecting recurrence. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*; 34(4): 396-400.
- Chen, Y.W. *et al.* (2007). Use of methylene blue as a diagnostic aid in early detection of oral cancer and precancerous lesions. *British Journal of Oral Maxillofacial Surgery*; 45: 590-591.
- Culling, C.F.A., Allison, R.T. e Barr, W.T. (1987). Part I Introduction. *Cellular Pathology Technique*. 4ª ed. London, Butterworths, p.15.

DeClerck, Y.A. (2000). Interaction between tumour cells and stromal cells and proteolytic modification of the extracellular matrix by metalloproteinases in cancer. *European Journal of Cancer*; 36: 1258–1268.

De Veld, D.C. *et al.* (2005). The status of in vivo autofluorescence spectroscopy and imaging for oral oncology. *Oral Oncology*; 41(2): 117–31.

Diajil A. *et al.* (2013). Clinical outcome following oral potentially malignant disorder treatment: a 100 patient cohort study. *International Journal of Dentistry*; 2013: 809248.

Dietrich, T., Reichart, P.A. e Scheifele, C. (2004). Clinical risk factors of oral leukoplakia in a representative sample of the US population. *Oral Oncology*; 40: 158–163.

Dolmans, D.E., Fukumura, D. e Jain, R.K. (2003). Photodynamic therapy for cancer. *Nature Review Cancer*; 3: 380-387.

Duncan, K.O., Geisse, J.K. e Leffel, D.J. (2007). Epidermal and appendageal tumours. In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffel DJ, (Ed.) *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 7<sup>a</sup> ed. McGraw, pp.1024-1026.

Ebihara, A. *et al.* (2003). Detection and diagnosis of oral cancer by light-induced fluorescence. *Lasers in Surgery and Medicine*; 32: 17-24.

Epstein, J.B. *et al.* (2007). Analysis of oral lesion biopsies identified and evaluated by visual examination, chemiluminescence and toluidine blue. *Oral Oncology*; 44(6): 538-44.

Epstein, J.B. e Güneri, P. (2009). The adjunctive role of toluidine blue in detection of oral premalignant and malignant lesions. *Current Opinion in Otolaryngology and Head Neck Surgery*; 17(2): 79-87.

Epstein, J.B., Zhang, L. e Rosin, M. (2002). Advances in the diagnosis of oral premalignant and malignant lesions. *Journal of the Canadian Dental Association*; 68(10): 617-21.

Farah, C.S. e McCullough, M.J. (2007). A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (ViziLite TM) in the visualization of oral mucosal white lesions. *Oral Oncology*; 43: 820-824.

Gandolfo, S. *et al.* (2006). Toluidine blue uptake in potentially malignant oral lesions in vivo: Clinical and histological assessment. *Oral Oncology*; 42: 89–95.

Gomes, C.C. e Gomez, R.S. (2013). Oral leukoplakia: what is achieved by surgical treatment? *Annals of Oral and Maxillofacial Surgery*; 01;1(1): 9.

Gorsky, M. e Epstein, J.B. (2002). The effect of retinoids on premalignant oral lesions - focus on topical therapy. *Cancer*; 95: 1258-64.

Hashibe, M. *et al.* (2000). Alcohol drinking, body mass index and the risk of oral leukoplakia in an Indian population. *International Journal of Cancer*; 88: 129–34.

Hopper, C. (2000). Photodynamic therapy: a clinical reality in the treatment of cancer. *The Lancet Oncology*; 1: 212–219.

Huber, M.A., Bsoul, S.A. e Terezhalmay, G.T. (2004). Acetic acid wash and chemiluminescent illumination as an adjunct to conventional oral soft tissue examination for the detection of dysplasia: a pilot study. *Quintessence International*; 35(5): 378–84.

Ide, R. *et al.* (2007). A prospective study of green tea consumption and oral cancer incidence in Japan. *Annals of Epidemiology*; 17: 821–6.

Instituto Nacional de Câncer – INCA, Ministério da Saúde, Secretaria de Assistência à Saúde. (2002). Epidemiologia. *Falando Sobre Câncer da Boca*. Rio de Janeiro, Engenho e Arte, p.9.

Ishida, C.E. e Ramos-e-Silva, M. (1998). Cryosurgery in oral lesions. *International Journal of Dermatology*; 37: 283-5.

Ishii, J., Fujita, K. e Komori, T. (2003). Laser surgery as a treatment for oral leukoplakia. *Oral Oncology*; 39: 759–69.

Jerjes, W. *et al.* (2007). The application of photodynamic therapy in the head and neck. *Dental Update*; 34(8):478–480, 483–484, 486.

Jerjes, W. *et al.* (2009). Ultrasound-guided photodynamic therapy for deep seated pathologies: Prospective study. *Lasers in Surgery and Medicine*; 41(9): 612–621.

Jerjes, W. *et al.* (2011). Photodynamic therapy outcome for oral dysplasia. *Lasers in Surgery and Medicine*; 43: 192–199.

Kawczyk-Krupka, A. *et al.* (2012). Coparison of cryotherapy and photodynamic therapy in treatment of oral leukoplakia. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*; 9, 148-155.

Kowalski, L.P., Parise, O. e Lehn, C. (2008). Parte II. *Diagnóstico e tratamento - Câncer de Cabeça e Pescoço*. 1ª ed. São Paulo, Brasil, Âmbito Editores, pp. 93-141.

Kujan, O. *et al.* (2006). Evaluation of a new binary system of grading oral epithelial dysplasia for prediction of malignant transformation. *Oral Oncology*; 42, 987– 993.

Lane, P.M., *et al.* (2006) Simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *Journal of Biomedical Optics*; 11: 024006.

Lin, H.P. *et al.* (2011). Cryogun cryotherapy for oral leukoplakia. *Head and Neck*. 34(9): 1306-11.

Lingen *et al.*, M.W. (2008). Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. *Oral Oncology*; 44(1): 10–22.

Lodi, G. *et al.* (2006). Interventions for treating oral leukoplakia. *Cochrane Database Systematic Reviews*; 18(4): CD001829.

Lodi, G. e Porter, S. (2008). Management of potentially malignant disorders: evidence and critique. *Journal of Oral Pathology and Medicine*; 37: 63–69.

Lubin, J.H. *et al.* (2011). An examination of male and female odds ratios by BMI, cigarette smoking, and alcohol consumption for cancers of the oral cavity, pharynx,

and larynx in pooled data from 15 case-control studies. *Cancer Causes Control*; 22(9): 1217-31.

MacDonald, G. (2003). Classification and histopathological diagnosis of epithelial dysplasia and minimally invasive cancer. *Satellite Symposium on epithelial dysplasia and borderline cancer of the head and neck: controversies and future directions*. Joint Meeting BSOMP, BSOM, BAHNO; Oxford.

Maserejian, N.N. *et al.* (2006). Prospective study of alcohol consumption and risk of oral premalignant lesions in men. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*; 15:774–81.

Mehrotra R., Gupta, A. e Singh, M. (2006). Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. *Molecular Cancer*; 5: 11.

McNamara, K.K. *et al.* (2012). The role of direct visual fluorescent examination (VELscope) in routine screening for potentially malignant oral mucosal lesions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology*; 114(5): 636-43.

Meltzer, C. (2007). Surgical management of oral and mucosal dysplasias: The case for laser excision. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*; 65: 293-295.

Missmann, M. *et al.* (2006). A reason for the use of toluidine blue staining in the presurgical management of patients with oral squamous cell carcinomas. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology*; 102: 741-743.

Nagao, T. *et al.* (2000). Serum antioxidant micronutrients and the risk of oral leukoplakia among Japanese. *Oral Oncology*; 36: 466–70.

Neville, B. W. e Day. T. A. (2002). Oral cancer and precancerous lesions. *A Cancer Journal for Clinicians*; 52: 195-215.

Neville, B.W., Damm, D.D., Allen e C.M., Bouquot, J.E. (2009). Patologia Epitelial. In: Neville, B.W., Damm, D.D., Allen, C.M., Bouquot, J.E., (Ed.). *Oral and Maxillofacial Pathology*. 3ª ed. Rio de Janeiro, Elsevier, pp. 388–398.

- Onofre, M.A., Sposto, M.R. e Navarro, C.M. (2001). Reliability of toluidine blue application in the detection of oral epithelial dysplasia and in situ invasive squamous cell carcinoma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology*; 91: 535-40.
- Pandey, M. *et al.* (2001). Evaluation of surgical excision of non-homogeneous oral leukoplakia in a screening intervention trial, Kerala, India. *Oral Oncology*; 37(1): 103-9.
- Parlatescu, I. *et al.* (2014). Oral leukoplakia – An Update. *Maedica – a Journal of Clinical Medicine*; 9(1): 88-93.
- Petti, S. (2003). Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review. *Oral Oncology*; 39: 770–80.
- Pietruska, M *et al.* (2014). Clinical evaluation of photodynamic therapy efficacy in the treatment of oral leukoplakia. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*; 11(1): 34-40.
- Prasad, M. *et al.* (2009). Liquid nitrogen cryotherapy in the management of oral lesions: a retrospective clinical study. *Journal Maxillofacial Oral Surgery*, 8(1): 40-42.
- Ramanujam, N. (2000). Fluorescence spectroscopy of neoplastic and non-neoplastic tissues. *Neoplasia*; 2: 89–117.
- Reibel, J. (2003). Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. *Critical Review of Oral Biology and Medicine*; 14: 47-62.
- Reichart, P.A. (2001). Identification of risk groups for oral precancer and cancer and preventive measures. *Clinical Oral Investigations*; 5(4): 207-13.
- Rezende, K.M *et al.* (2014). Cryosurgery as an effective alternative for treatment of oral lesions in children. *Brazilian Dental Journal*; 25(4): 352-6.

- Ribeiro, A.S. *et al.* (2010). A review of the nonsurgical treatment of oral leukoplakia. *International Journal of Dentistry*; 2010: 186018
- Rodrigues, T. L. C. *et al.* (2000). Leucoplasias bucais: relação clínico-histopatológica Oral. *Pesquisa Odontológica Brasileira*; 14 (4): 357-361.
- Saito, T. *et al.* (2001). Development of squamous cell carcinoma from pre-existent oral leukoplakia: with respect to treatment modality. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery*; 30: 49–53.
- Sankaranarayanan, R. *et al.* (1997). Chemoprevention of oral leukoplakia with vitamin A and betacarotene: an assessment. *Oral Oncology*; 33: 231-6.
- Scheifele, C. e Reichart, P.A. (2003). Is there a natural limit of the transformation rate of oral leukoplakia? *Oral Oncology*; 39(5): 470-5.
- Schoelch, M.L. *et al.* (1999). Laser management of oral leukoplakia: a follow-up study of 70 patients. *The Laryngoscope*; 109: 949-953.
- Sciubba, J.J. (1999). Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. *Journal of American Dental Association*; 130(10): 1445–57.
- Scully, C. e Porter, S. (2000). ABC of oral health. Oral cancer. *British Medical Journal*; 321(7253): 97–100.
- Shan, J. P. e Gil, Z. (2009). Current concepts in management of oral cancer – Surgery. *Oral Oncology*; 45(4-5): 394-401.
- Shiu, M.N. *et al.* (2000). Risk factors for leukoplakia and malignant transformation to oral carcinoma: A leukoplakia cohort in Taiwan. *British Journal of Cancer*; 82: 1871–1874.
- Siddiqui, I.A. *et al.* (2006). Role of toluidine blue in early detection of oral cancer. *Pakistan Journal of Medical Sciences*; 22: 184-7.

Sperandio, M. *et al.* (2002). Biomarkers to predict oral squamous cell carcinoma in precancerous stages. *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*; 10: 63–7.

Tambuwalla, A. *et al.* (2014). Excision of oral leukoplakia by CO2 lasers versus traditional scalpel: a comparative Study. *Journal of Maxillofacial Oral Surgery*; 13(3): 320–327.

Trullenque-Eriksson, A. *et al.* (2009). Analysis of new diagnostic methods in suspicious lesions of the oral mucosa. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*; 14 (5): E210-6.

Tsao, A.S. *et al.* (2009). Phase II randomized, placebo controlled trial of green tea extract in patients with high-risk oral premalignant lesions. *Cancer Prevention Research*; 2(11): 931-41.

Tuncer, I. *et al.* (2002) Comparison of conventional surgery and CO2 laser on intraoral soft tissue pathologies and evaluation of the collateral thermal damage. *Photomedicine and Laser Surgery*; 31: 145–153

Van der Waal, I. (2009). Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; present concepts of management. *Oral Oncology*; 46: 423–425.

Vedtofte, P. *et al.* (1987). Surgical treatment of premalignant lesions of the oral mucosa. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery*; 16(6): 656-64.

Vissink, A. (2003). Oral sequelae of head and neck radiotherapy. *Critical Reviews in Oral Biology Medicine*; 14(3): 199-212.

Warnakulasuriya, K.A. e Johnson, N.W. (1996). Sensitivity and specificity of OraScan® toluidine blue mouth rinse in the detection of oral cancer and precancer. *Journal of Oral Pathology and Medicine*; 25(3): 97–103.

Warnakulasuriya, S. (2001). Histological grading of oral epithelial dysplasia: revisited. *Journal of Pathology*; 194(3): 294-7.

Warnakulasuriya, S. *et al.* (2007). Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *Journal of Oral Pathology and Medicine*; 36:

575–80.

Warnakulasuriya, S. (2008). Demonstration of ethanol-induced protein adducts in oral leukoplakia (pre-cancer) and cancer. *Journal of Oral Pathology and Medicine*; 37: 157–165.

Warnakulasuriya, S. *et al.* (2008). Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement. *Journal of Oral Pathology and Medicine*; 37: 127–133.

Warnakulasuriya, S. (2009). Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncology*; 45: 309–316.

Warnakulasuriya, S. *et al.* (2009). Malignant transformation of oral potentially malignant disorders in males: a retrospective cohort study. *BMC Cancer*; 9: 260.

Warnakulasuriya, S. (2009). Food, nutrition and oral cancer. Wilson, M. (Ed.). *Food constituents and oral health: Current status and future prospects*. UK, Woodhead Publishing, pp. 273-295.

Woo, S.B., Grammer, R.L. e Lerman, M.A. (2014). Keratosis of unknown significance and leukoplakia: a preliminary study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology*; 118(6): 713-24.

World Health Organization. (2003). Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases. *Report of a joint WHO/FAO Expert Consultation*, 916. Geneva, p. 95.

World Health Organization, International Agency for Research on Cancer (IARC). (2004). Betel-quid and areca-nut chewing and some areca-nut-derived nitrosamines. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, 85. Lyon, IARCPress, pp.39-64.

World Health Organization, International Agency for Research on Cancer (IARC). (2005). Classification of Tumours. In: Barnes, L, Eveson, J.W., Reichart, P., Sidransky, D. (Ed.). *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. WHO/IARC Classification of Tumours*, 9 (3). Lyon, IARCPress, pp. 177–179.

World Health Organization. (2009). Disponível em <<http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/tobacco/data-and-statistics/who-is-smoking/adults>> [Consultado em 01/02/2016].

World Health Organization. (2013). Disponível em <<http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/alcohol-use/publications/2013/status-report-on-alcohol-and-health-in-35-european-countries-2013>> [Consultado em 01/02/2016].

Wysocki, G.P. (1999). Toluidine blue-viewpoints. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology*; 87(5): 527-8.

Yang, S.W. *et al.* (2009) Human papillomavirus in oral leukoplakia is no prognostic indicator of malignant transformation. *Cancer Epidemiology*; 33: 118–122.

Yeh, C.J. (2000). Simple Cryosurgical treatment for oral lesions. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*; 29 (3): 212-216.

Yu, C.H. *et al.* (2009). Comparison of clinical outcomes of oral erythroleukoplakia treated with photodynamic therapy using either light-emitting diode or laser light. *Lasers Surgical Medicine*; 41: 628-633.

Zhang, L. *et al.* (2005). Toluidine blue staining identifies high-risk primary oral premalignant lesions with poor outcome. *Cancer Research*; 65: 8017–8021.

