UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

SISTEMAS DE GRADAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE MALIGNIDADE E SUA RELAÇÃO COM PARÂMETROS CLÍNICOS EM CARCINOMAS DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LÁBIO INFERIOR

LEONARDO HENRIQUE DE ARAÚJO CAVALCANTE

CAMPINA GRANDE/ PB
2013

LEONARDO HENRIQUE DE ARAÚJO CAVALCANTE

SISTEMAS DE GRADAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE MALIGNIDADE E SUA RELAÇÃO COM PARÂMETROS CLÍNICOS EM CARCINOMAS DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LÁBIO INFERIOR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Cassiano Francisco Weege Nonaka

CAMPINA GRANDE/ PB

2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

C376s Cavalcante, Leonardo Henrique de Araujo.
Sistemas de gradação histopatológica de malignidade e sua relação com parâmetros clínicos em carcinomas de células escamosas de lábio inferior. [manuscrito] / Leonardo Henrique de Araujo Cavalcante. – 2013.
83 f. ; il. color.

Digitado
Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2013.

"Orientação: Prof. Dr. Cassiano Francisco Weege Nonaka, Departamento de Odontologia".

1. Neoplasia. 2. Histopatologia. 3. Saúde bucal. I. Título.

21. ed. CDD 617.6

LEONARDO HENRIQUE DE ARAÚJO CAVALCANTE

SISTEMAS DE GRADAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE MALIGNIDADE E SUA RELAÇÃO COM PARÂMETROS CLÍNICOS EM CARCINOMAS DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LÁBIO INFERIOR

DATA DA DEFESA: 11/04/2013

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Leão Pereira Pinto/ UFRN
Membro titular (1º Examinador)

Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy/ UEPB
Membro titular (2ª Examinador)

Prof. Dr Cassiano Francisco Weege Nonaka/ UEPB
Membro titular (Orientador)

DEDICATÓRIA

EDICATÓRIA

Primeiramente, a Deus, pois sem ele nada sou e nada conseguiria, meu pai criador, meu sol, meu norte! Ao divino mestre Jesus Cristo, exemplo maior de moral, retidão, amor e caridade. Aos bons espíritos que sempre estão e estiveram ao meu lado, ajudando-me a trilhar os caminhos que escolho e que sempre, sob a égide do Deus pai todo poderoso, do Nosso Senhor Jesus Cristo e de Nossa Senhora Santa Maria, amparam-me e fortalecem-me!

À minha mãe, a quem, abaixo de Deus, devo tudo, devo a vida. Minha amiga, minha irmã, minha confidente, meu porto seguro que sempre buscou apoiar-me da melhor e mais correta maneira possível, que nunca deixou os sonhos ou as esperanças se desvanecerem em mim! Mãe, eu amo você!

Aqueles amigos que à sua maneira, buscaram encorajar-me e apoiar-me! Aqueles que à sua maneira tentaram incentivar-me! Aos que me animaram, aos que me entusiasmaram. A todos que, de alguma forma, fizeram parte de cada tijolo que levantou essa construção.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Meus sinceros, imensos e imprescindíveis agradecimentos ao meu Orientador, ***Prof. Dr. Cassiano Francisco Weege Nonaka****, pela dedicação, integridade e toda a transmissão de conhecimentos científicos, importantes na orientação desta investigação e na minha formação. Obrigado pela Orientação e pelos inúmeros ensinamentos, pela paciência e oportunidade de crescimento que você me proporcionou. Obrigado pela confiança e credibilidade em mim depositadas. Muito obrigado pelos estímulos fundamentais que resgataram em mim a capacidade de me sentir hábil para continuar nessa jornada e por ter, num dos momentos mais críticos desta caminhada, mostrado-se capaz, determinado, obstinado, resolvendo meus problemas com muita praticidade, paciência, perseverança e tranquilidade, sem ultrajar-se, conforme suas possibilidades. Obrigado pelo carinho e pelas risadas, obrigado por ter sido um verdadeiro Mestre!*

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, ao mestre, ao grande amigo ***Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy****, obrigado por toda a dedicação, pelo exemplo de otimismo e maneira alegre de ser e lidar com a causa acadêmica, pelo exemplo de coerência e bom senso. Obrigado por toda a sua competência! Obrigado pela atenção, pelo sorriso largo e acolhedor, pelo exemplo de simplicidade e humildade e por nossas conversas sempre muito agradáveis. Obrigado por todo incentivo, sinceridade e por toda a sincera e admirável amizade que nos é pertinente. Você é uma das pessoas mais sensatas e íntegras que conheço, é um verdadeiro exemplo de como ser um mestre, de como ser um docente. Obrigado pela disponibilidade e ensinamentos transmitidos na vida profissional e no âmbito pessoal. Agradeço também pelo voto de confiança, especialmente nos momentos de dificuldade, durante os quais sempre me ofereceu uma palavra de incentivo e conforto, de forma íntegra e sensata. Obrigado por toda a sua simpatia e alegria de viver e por sempre, junto com Cassiano, tornar o ambiente de trabalho agradável, leve e próspero. Obrigado por você ser um verdadeiro exemplo.*

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

*À minha amada mãe, **Maria Salvani**, por absolutamente tudo!*

*Ao meu irmão **Rodrigo** pelo amor e amizade.*

*Ao meu padrasto, **José Alfrísio**, que junto com minha mãe permitiu que eu pudesse ter o melhor e receber a melhor educação possível.*

*À minha cunhada, **Anne Aluska**, pelas dicas e pelo apoio.*

*Às minhas grandes e eternas amigas, **Eliete Colaço** e **Rosemary Porto**, por todos os longos anos de amizade verdadeira, pela leveza de sermos o que somos, pelos incentivos encorajadores nas horas certas, pelo abraço terno e acolhedor, obrigado por tudo!*

*À minha querida tia, **Maria Santana**, pelo apoio, pelos ensinamentos, pela dedicação, pelo carinho, pelos conselhos e papos furados. Obrigado pelas longas horas em que, no seu canto, preocupou-se e ainda preocupa-se comigo. Obrigado por todo o amor!*

*Aos queridos amigos **Helio Jr, Thiago Cardoso, Fábio Paixão, Karlla Martelli e Priscilla Martelli**, por tudo o que cada um, ao seu tempo e modo, me deu e me trouxe. Obrigado pelas baladas, pelas rusgas, pelas risadas, pela amizade, pela compreensão, pela força, pelo apoio. Obrigado por sermos tão diferentes e, ao mesmo tempo, tão semelhantes!*

*À minha querida prima **Lorena** pelo carinho à distância, pela torcida, pela amizade, por todo e tanto querer bem! Obrigado por toda a "leveza"!*

*Aos meus amigos do mestrado, **Rennaly Lima** e **Raulison Vieira** pelas risadas, pelos momentos de descontração, pelo apoio, pelos bons estímulos e pelo companheirismo e por muitas vezes compartilhar os fardos, os pesares, as desilusões e os momentos difíceis. Espero que, mesmo tomando direcionamentos opostos, possamos manter esse vínculo tão bom, tão positivo e que a cada dia que passa, torna-se mais sólido!*

*À amiga **Yasmine Carvalho** por todo o suporte, apoio e incentivos de força e coragem! Mine, obrigado por todo o carinho, por toda a atenção, pela ajuda, pelas dicas, pelos ensinamentos, pela torcida! Espero que estejamos sempre juntos e misturados, mesmo que à distância.*

*À meu amigo e eterna dupla de clínica **Hugo Isney** que, mesmo após concluída a graduação, continua presente em minha vida, apoiando-me, ajudando-me, na torcida para que eu cresça cada vez mais e que esteja sempre bem e de bem com tudo.*

*Aos meus caríssimos colegas de turma de mestrado **Vanessa, Marcela, Lorena, Yêska, Fábio, Milu, Roniery, Manuela e Betânia**! Obrigado pelos momentos em que estivemos juntos, nos quais nos apoiamos, quando formamos um grupo. Vanessa, "tamo junto"! Marcelinha, "é nóis na fita"! Manu, força que dá! Bete, você sabe que é de altíssimo nível! Lorena, Yêska, Fábio, Roniery e Milu vocês são de alto!*

*À caríssima colega de turma **Priscilla Suassuna** que se mostrou uma grande companheira, presente, dando apoio e suporte nas horas exatas! Pri, obrigado pelo companheirismo, por toda a contribuição e pela oportunidade de termos nos aproximado mais!*

*Às colegas da graduação **Helen Bandeira** e **Amanda do Ó** por toda a ajuda, por todo o apoio e pela contribuição inestimável e imprescindível. Sem vocês tudo teria sido bem mais difícil!*

*À **Prof.ª Dr.ª Denise Nóbrega Diniz**, pela disponibilidade, elogios, confiança e, ainda, grande carinho dispensados a mim.*

*Às **Profas. Dras. Rilva Suely, Edja Melo, Ana Flávia Granville-Garcia** pelos ensinamentos e pelo carinho.*

*Ao **Prof. Dr. Sérgio D'Ávila** pela amizade, confiança, simpatia. Obrigado pelos conselhos, pelo apoio e por todos os ensinamentos. Obrigado pelos papos descontraídos, pelo carinho e por toda a atenção!*

*Aos **funcionários e técnicos** da Universidade Estadual da Paraíba, em especial aos do Laboratório de Histopatologia Oral do Departamento de Odontologia.*

*Aos demais **professores** do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba.*

*Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** e à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelos auxílios financeiros que tornaram possível a realização deste trabalho.*

Obrigado a todos que, de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho e para minha formação humana.

RESUMO

RESUMO

O carcinoma de células escamosas é a neoplasia maligna mais comum em lábio inferior. O sistema de estadiamento clínico de tumores (TNM) tem sido utilizado como padrão internacional para classificar as neoplasias malignas em estádios e estimar a resposta clínica à terapia e a sobrevida dos pacientes. No entanto, esse sistema nem sempre é capaz de estabelecer o desfecho clínico para os pacientes, fato que tem suscitado a busca por outros fatores prognósticos capazes de suplementá-lo, com destaque para os sistemas de gradação histopatológica de malignidade (SGHM). O objetivo deste estudo foi avaliar o grau histopatológico de malignidade em uma série de casos de carcinomas de células escamosas de lábio inferior (CCELI), por meio do sistema de gradação no *front* de invasão (BRYNE et al., 1992), do sistema de gradação da Organização Mundial da Saúde (OMS) (CARDESA et al., 2005) e do modelo histopatológico de análise de risco (BRANDWEIN-GENSLER et al., 2005), e relacioná-los com parâmetros clínicos. Cortes histológicos corados em hematoxilina e eosina, obtidos de 59 casos de CCELI, foram avaliados sob microscopia de luz. Possíveis associações entre o grau histopatológico de malignidade das lesões e os parâmetros clínicos (tamanho/ extensão do tumor, metástase em linfonodos regionais e estádio clínico) foram avaliadas pelos testes do Qui-quadrado e exato de Fisher. Para a gradação no *front* de invasão, foi observada associação significativa do baixo grau de malignidade com a ausência de metástase regional (p = 0,030) e com o estádio clínico inicial (p = 0,043). Por outro lado, o alto grau de malignidade no *front* de invasão revelou associação significativa com o maior tamanho/ extensão do tumor (p = 0,040). Em relação ao sistema da OMS, não foram observadas associações estatisticamente significativas entre os parâmetros clínicos analisados e o grau histopatológico dos tumores (p > 0,05). Para o modelo histopatológico de análise de risco, foi constatada associação altamente significativa do escore de risco com a metástase em linfonodos regionais (p = 0,004) e com o estádio clínico (p = 0,002). Além disso, foi observada associação significativa do infiltrado linfocítico com a metástase regional (p = 0,017) e com o estádio clínico (p = 0,040). Em conclusão, os achados do presente estudo sugerem que, dentre os SGHM analisados, o modelo histopatológico de análise de risco pode constituir o melhor sistema para indicar o comportamento biológico dos CCELI.

Palavras-chave: Lábio, carcinoma de células escamosas, sistemas de gradação histopatológica, histopatologia.

ABSTRACT

ABSTRACT

Squamous cell carcinoma is the most common malignant neoplasm in lower lip. The clinical staging system for tumors (TNM) is an international system for staging malignant neoplasms that has been used to estimate both the clinical response to therapy and patients' survival. However, this system does not always predict clinical outcome for patients, a fact that has driven the search for other prognostic factors that could improve it, particularly the histopathologic malignancy grading systems (HMGS). The aim of this study was to evaluate the histopathologic grade of malignancy in a case series of lower lip squamous cell carcinomas (LLSCC), by means of malignancy grading of the deep invasive *front* (BRYNE et al., 1992), World Health Organization (WHO) grading system (CARDESA et al., 2005) and histopathologic risk assessment (BRANDWEIN-GENSLER et al., 2005), relating it to clinical aspects. Tissue sections stained with hematoxylin and eosin, obtained from 59 cases of LLSCC, were examined under a light microscope. Chi-square test and Fisher's exact test were performed to verify possible associations between the histopathologic grade of malignancy of the tumors and clinical aspects (size/ direct extension of the tumor, regional nodal metastasis, and clinical stage). Regarding the histopathologic grading at the invasive *front*, the low grade of malignancy showed a significant association with absence of regional metastasis (p = 0.030) and early clinical stage (p = 0.043). On the other hand, the high grade of malignancy at the invasive *front* disclosed a significant association with the larger size/ direct extension of the tumor (p = 0.040). With respect to WHO grading system, no statistically significant associations were observed between the clinical aspects and the histopathologic grade of the tumors ($p > 0.05$). For histopathologic risk assessment, the risk score showed a highly significant association with regional nodal metastasis (p = 0.004) and clinical stage (p = 0.002). In addition, the lymphocytic infiltrate exhibited a significant association with regional metastasis (p = 0.017) and clinical stage (p = 0.040). In conclusion, the results of the present study suggest that, of the HMGS evaluated, the histopathologic risk assessment may constitute the best system to indicate the biological behavior of LLSCC.

Key-words: Lip, squamous cell carcinoma, histopathologic grading systems, histopathology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Página

Quadro 1. Elenco de variáveis independentes analisadas no estudo..... 35

Quadro 2. Elenco de variáveis dependentes analisadas no estudo..... 35

Quadro 3. Sistema de estadiamento clínico TNM para o carcinoma de células escamosas de lábio, preconizado por Sobin e Wittekind (2002)..... 36

Quadro 4. Categorias de estadiamento clínico TNM para o carcinoma de células escamosas de lábio, preconizado por Sobin e Wittekind (2002)..... 37

Quadro 5. Sistema de gradação histopatológica de malignidade no *front* de invasão, proposto por Bryne et al. (1992)..... 39

Quadro 6. Sistema de gradação histopatológica de malignidade proposto pela OMS (CARDESA et al., 2005)..... 40

Quadro 7. Sistema de gradação histopatológica de malignidade proposto por Brandwein-Gensler et al. (2005)..... 40

Figura 1. Fig. 1. A) Fotomicrografia do *front* de invasão de CCELI de baixo grau de malignidade (H/E, 100×). B) *Front* de invasão de CCELI de alto grau de malignidade exibindo pequenas ilhas tumorais com menos de 15 células (setas) (H/E, 100×). C) CCELI bem diferenciado, com numerosas pérolas de ceratina (H/E, 100×). D) CCELI pobremente diferenciado exibindo intenso pleomorfismo celular (H/E, 400×). E) Detalhe de um nódulo linfóide (seta) em CCELI de risco intermediário (H/E, 100×). F) CCELI de alto risco, com pior padrão de invasão tipo 4 e infiltrado linfocítico tipo 3 (H/E, 100×). G) Invasão perineural (setas) em fascículo nervoso com mais de 1 mm de diâmetro em CCELI de alto risco (H/E, 100×). H) CCELI de baixo risco, com pior padrão de invasão tipo 3 e infiltrado linfocítico tipo 1 (H/E, 100×)..... 60

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1. Aspectos morfológicos avaliados no SGHM proposto por Bryne et al. (1992) e seus respectivos escores..... 61

Tabela 2. Aspectos morfológicos avaliados no SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al. (2005) e seus respectivos escores..... 62

Tabela 3. Distribuição absoluta e relativa dos casos de carcinoma de células escamosas de lábio inferior de acordo com os parâmetros clínico-patológicos..... 63

Tabela 4. Distribuição absoluta e relativa dos casos de carcinoma de células escamosas de lábio inferior de acordo com as gradações histopatológicas de malignidade e os parâmetros clínicos..... 64

Tabela 5. Distribuição absoluta e relativa dos casos de carcinoma de células escamosas de lábio inferior de acordo com os aspectos morfológicos avaliados no SGHM proposto por Bryne et al. (1992) e os parâmetros clínicos..... 65

Tabela 6. Distribuição absoluta e relativa dos casos de carcinoma de células escamosas de lábio inferior de acordo com os aspectos morfológicos avaliados no SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al. (2005) e os parâmetros clínicos..... 66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- **CCE** Carcinoma de células escamosas.
- **CCELI:** Carcinoma de células escamosas de lábio inferior.
- **CCEO:** Carcinoma de células escamosas oral.
- **DNA:** Do inglês *deoxyribonucleic acid*, traduzido como ácido desoxirribonucléico.
- **NK:** *Natural Killer*.
- **OMS:** Organização Mundial da Saúde.
- **SGHM:** Sistema de gradação histopatológica de malignidade.
- **TNM:** Tumor-Nodo-Metástase.
- **UEPB** Universidade Estadual da Paraíba.
- **UV:** Ultravioleta.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Página

1	**CONSIDERAÇÕES INICIAIS**.....	26
2	**OBJETIVOS**.....	31
2.1	OBJETIVO GERAL.....	31
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
3	**MATERIAL E MÉTODOS**.....	33
3.1	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	33
3.2	CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO.....	33
3.3	POPULAÇÃO.....	33
3.4	AMOSTRA.....	34
3.4.1	**Critérios de inclusão**.....	34
3.4.2	**Critérios de exclusão**.....	34
3.5	VARIÁVEIS.....	35
3.6	ESTUDO CLÍNICO.....	36
3.7	ESTUDO MORFOLÓGICO.....	38
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
4	**ARTIGO**.....	44
4.1	APRESENTAÇÃO.....	44
4.2	ARTIGO A SER SUBMETIDO.....	45
5	**CONSIDERAÇÕES FINAIS**.....	68
	REFERÊNCIAS.....	
	APÊNDICES	
	ANEXOS	

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O termo “carcinoma de lábio” é utilizado para designar os tumores malignos epiteliais que se originam na porção do vermelhão do lábio (BATISTA et al., 2010), os quais representam de 10,8% a 30% de todos os carcinomas de células escamosas orais (CCEO) (HASSON, 2008; MAROCCHIO et al., 2010; SOUZA et al., 2011). A despeito dos relatos de uma tendência de diminuição na incidência dos carcinomas de lábio, como observado em estudos realizados em Israel (CZERNINSKI; ZINI; SGAN-COHEN, 2010; ZINI et al., 2010), no Brasil, tem sido reportado um aumento significativo dos casos de carcinomas de células escamosas de lábio inferior (CCELI) (MAROCCHIO et al., 2010).

A etiopatogenia do carcinoma de células escamosas (CCE) de lábio ainda não foi completamente elucidada. No entanto, a exposição crônica à radiação solar ultravioleta (UV) tem se apresentado como o principal fator associado ao desenvolvimento destas lesões (SALGARELLI et al., 2009; SOUZA et al., 2011; GUTIÉRREZ-PASCUAL et al., 2012). A carcinogenicidade dos raios UV é atribuída, em grande parte, aos raios UVB (280-315nm), os quais são capazes de determinar a formação de dímeros de pirimidina no ácido desoxirribonucléico (DNA) (BRASILEIRO FILHO, 2011; SOUZA et al., 2011). Este tipo de lesão é corrigida pela via de excisão de nucleotídeos, mas com a exposição solar excessiva, a capacidade desta via de reparo é sobrepujada e, assim, parte da lesão do DNA não é corrigida (KUMAR et al., 2010; BRASILEIRO FILHO, 2011). O fato da exposição solar crônica ser o principal fator de risco para o desenvolvimento do CCELI é de extrema relevância para o Brasil, um país tropical com elevada incidência de radiação solar, principalmente na região Nordeste (SOUZA et al., 2011).

O CCE de lábio é usualmente diagnosticado em homens (6:1) de pele clara, entre a quarta e a sexta décadas de vida, com histórico de exposição crônica à luz solar (HASSON, 2008; BATISTA et al., 2010; SOUZA et al., 2011; GUTIÉRREZ-PASCUAL et al., 2012). Mais de 90% dos casos estão localizados no lábio inferior, já que a sua posição possibilita exposição intensa ao sol em comparação com o lábio superior (SARGERAN et al., 2009; BATISTA et al., 2010; GUTIÉRREZ-PASCUAL et al., 2012). A visibilidade de alterações no lábio inferior possibilita o diagnóstico precoce do CCE nesta localização (SALGARELLI et al., 2009), culminando em taxas de sobrevida em 5 anos que variam de 80% a 90% (SARGERAN et al., 2009; GUTIÉRREZ-PASCUAL et al., 2012). Mesmo assim, 6,6% a 26,5% dos casos já apresentam metástases em linfonodos cervicais ao diagnóstico

(VUKADINOVIC et al., 2007; SALGARELLI et al., 2009; SARGERAN et al., 2009), determinando, nesses casos, uma diminuição na sobrevida dos pacientes em 5 anos para apenas 25% a 50% (BILKAY et al., 2003; KORNEVS et al., 2005; VUKADINOVIC et al., 2007; SALGARELLI et al., 2009; GUTIÉRREZ-PASCUAL et al., 2012).

O sistema de estadiamento clínico de tumores (TNM) tem sido utilizado como padrão internacional para classificar as neoplasias malignas em estádios e estimar tanto a resposta clínica à terapia quanto a sobrevida dos pacientes (SOBIN; WITTEKIND, 2002; SAWAIR et al., 2003; LOURENÇO et al., 2007; LINDENBLATT et al., 2012). Este sistema baseia-se na avaliação de três componentes da doença: T – tamanho/ extensão do tumor primário; N – metástases em linfonodos regionais; e M – metástases à distância (SOBIN; WITTEKIND, 2002; WITTEKIND et al., 2002). No entanto, alguns casos de CCE, diagnosticados em estádios iniciais e tratados corretamente, evoluem com recorrências locais e disseminação metastática, determinando, por fim, o óbito do paciente. Tais constatações têm suscitado a busca por outros fatores prognósticos capazes de suplementar o sistema TNM (QUAEDVLIEG et al., 2006; WOOLGAR, 2006; WEIJERS et al., 2009; VERED et al., 2010; LINDENBLATT et al., 2012).

Assim, os sistemas de gradação histopatológica de malignidade (SGHM) para o CCEO surgiram com o intuito de fornecer conhecimentos adicionais que pudessem explicar o comportamento biológico discrepante de tumores com características clínicas aparentemente semelhantes. Esse conjunto de informações contribuiria para uma melhor determinação do prognóstico e sobrevida dos pacientes, através do delineamento do tratamento adequado para cada caso (ANNEROTH; BATSAKIS; LUNA, 1987; LOURENÇO et al., 2007; LINDENBLATT et al., 2012).

Broders (1920) foi o primeiro a propor um método para gradação do CCEO. Com base no grau de diferenciação das células neoplásicas, este autor classificou os tumores em: grau I (até 25% das células indiferenciadas), grau II (25% - 50% das células indiferenciadas), grau III (50% - 75% das células indiferenciadas) e grau IV (75% - 100% das células indiferenciadas). De acordo com este sistema, tumores com grau I ou II apresentavam baixas taxas de recorrência e metástase, ao passo que as lesões com grau III ou IV exibiam maior tendência ao desenvolvimento de metástase.

No entanto, estudos posteriores encontraram uma falta de associação entre a gradação, por meio do sistema proposto por Broders (1920), e o prognóstico dos CCEO (ARTHUR; FENNER, 1966; KRISHNAMURTHI; SHANTA; SASTRI, 1971). Tais achados levaram ao desenvolvimento de vários outros SGHM para esta neoplasia maligna, como os de

Wahi (1971), Lund et al. (1975), Anneroth e Hansen (1984) e Anneroth, Batsakis e Luna (1987). Por levarem em consideração não apenas as características das células tumorais, mas também aspectos relacionados ao hospedeiro, assumiram posição de destaque os SGHM propostos por Anneroth e Hansen (1984) e Anneroth, Batsakis e Luna (1987).

Embora demonstrasse importante associação com o prognóstico em CCEO, o sistema desenvolvido por Anneroth, Batsakis e Luna (1987) apresentava como importante limitação o fato de não poder ser utilizado em espécimes obtidos por meio de biópsias incisionais. Com o intuito de superar esta limitação, Bryne et al. (1989) recomendaram a realização de uma modificação no sistema descrito por Anneroth, Batsakis e Luna (1987), caracterizada pela gradação apenas da área mais invasiva do tumor, posteriormente denominada *front* de invasão tumoral (BRYNE, 1998).

Em sequência, Bryne et al. (1992) avaliaram o valor prognóstico de seu sistema (BRYNE et al., 1989) com e sem a contagem de figuras de mitose e verificaram que a remoção deste parâmetro aumentava a reprodutibilidade interexaminador, sem modificar o valor prognóstico deste SGHM. Desta forma, Bryne et al. (1992) preconizaram a utilização de um SGHM para CCEO baseado na avaliação de 4 parâmetros, no *front* de invasão tumoral: grau de ceratinização, padrão de invasão, pleomorfismo nuclear e infiltrado linfocítico. Neste SGHM, são atribuídos escores de 1 a 4 para cada um dos parâmetros morfológicos analisados (BRYNE et al., 1992). Para Bryne (1998), as características morfológicas no *front* de invasão poderiam refletir melhor o prognóstico destes tumores, já que vários eventos moleculares importantes ocorrem nesta região, como perda e ganho de moléculas de adesão, secreção de enzimas proteolíticas e angiogênese.

O SGHM da Organização Mundial da Saúde (OMS), revisado em 2005, tem como base o sistema proposto por Broders (1920) e leva em consideração o grau de diferenciação das células neoplásicas (CARDESA et al., 2005). De acordo com este sistema, os CCEO são classificados em: bem diferenciados, moderadamente diferenciados e pobremente diferenciados. Lesões bem diferenciadas se assemelham ao epitélio escamoso normal, ao passo que lesões moderadamente diferenciadas exibem pleomorfismo nuclear distinto e atividade mitótica, incluindo mitoses atípicas, bem como menor ceratinização. Por sua vez, nos carcinomas pobremente diferenciados, células imaturas predominam, com numerosas mitoses típicas e atípicas, além de mínima ceratinização (CARDESA et al., 2005).

Por sua vez, Brandwein-Gensler et al. (2005) propuseram um SGHM para CCEO, denominado modelo histopatológico de análise de risco, no qual são avaliados 3 parâmetros morfológicos: pior padrão de invasão, infiltrado linfocítico e invasão perineural. Para cada um

destes parâmetros, são atribuídos escores de 0 a 3. Com base no somatório destes escores, os tumores são classificados em: de baixo risco (escore 0), de risco intermediário (escore 1 ou 2) e de alto risco (escore igual ou superior a 3). De acordo com Brandwein-Gensler et al. (2005), foi observada uma associação significativa do escore de risco com a recorrência local e a sobrevida geral dos pacientes.

Estudos a respeito do potencial prognóstico dos SGHM propostos por Bryne et al. (1992) e pela OMS (CARDESA et al., 2005) em CCEO e CCELI têm apresentado resultados conflitantes (DE VISSCHER et al., 1998; SAWAIR et al., 2003; KUROKAWA et al., 2005; CLARK et al., 2006; QUAEDVLIEG et al., 2006; MORSELLI et al., 2007; SILVEIRA et al., 2007; BATISTA et al., 2010; CAMISASCA et al., 2011; LINDENBLATT et al., 2012). Assim, a utilização destes sistemas como indicadores de comportamento biológico destas neoplasias malignas permanece um assunto controverso. Por outro lado, pesquisas recentes têm destacado o potencial do SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al. (2005) para indicar a presença de metástase linfonodal e atuar como fator preditivo para a recorrência local e sobrevida geral dos pacientes com CCEO (BRANDWEIN-GENSLER et al., 2010; VERED et al., 2010; CAMISASCA et al., 2011; LINDENBLATT et al., 2012; MATOS et al., 2012). Apesar dos importantes achados descritos anteriormente, até o momento, não há estudos sobre a possível utilidade do SGHM desenvolvido por Brandwein-Gensler et al. (2005) na determinação do prognóstico em CCELI (Pubmed Database).

Dessa forma, o presente estudo se propôs a avaliar o grau histopatológico de malignidade em uma série de casos de CCELI, por meio dos SGHM propostos por Bryne et al. (1992), OMS (CARDESA et al., 2005) e Brandwein-Gensler et al. (2005), e relacioná-lo com parâmetros clínicos. Pretendeu-se, com esta pesquisa, verificar a possível utilização destes sistemas como indicadores de comportamento biológico nos CCELI.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo avaliar o grau histopatológico de malignidade em uma série de casos de CCELI, por meio dos SGHM propostos por Bryne et al. (1992), OMS (CARDESA et al., 2005) e Brandwein-Gensler et al. (2005), com o intuito de verificar a possível utilização destes sistemas como indicadores de comportamento biológico nestes tumores.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Relacionar o grau histopatológico de malignidade dos CCELI com parâmetros clínicos (tamanho/ extensão do tumor, metástase em linfonodos regionais, metástase à distância e estádio clínico);
- Estabelecer associações entre os SGHM propostos por Bryne et al. (1992), OMS (CARDESA et al., 2005) e Brandwein-Gensler et al. (2005) em CCELI.

MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A presente pesquisa foi cadastrada na Base de Registros de Pesquisas envolvendo Seres Humanos (Plataforma Brasil) e submetida à análise de seu conteúdo pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Conforme parecer nº 180.328 (ANEXO A), seu protocolo foi aprovado.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

O presente estudo consistiu em uma pesquisa de caráter observacional, com corte transversal e baseada em dados retrospectivos, caracterizada pela determinação do grau histopatológico de malignidade em uma série de casos de CCELI, por meio dos SGHM propostos por Bryne et al. (1992), OMS (CARDESA et al., 2005) e Brandwein-Gensler et al. (2005), e estabelecimento de relações com parâmetros clínicos (tamanho/ extensão do tumor, metástase em linfonodos regionais, metástase à distância e estádio clínico).

3.3 POPULAÇÃO

A população objeto do presente estudo foi composta por todos os casos de CCELI diagnosticados e arquivados no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Napoleão Laureano/ João Pessoa – PB, no período compreendido de Janeiro de 2000 a Janeiro de 2012.

3.4 AMOSTRA

A amostra do estudo foi intencional, por conveniência, constituída por 59 casos de CCELI, todos emblocados em parafina. Deste total, 23 casos foram oriundos de pacientes com metástase linfonodal regional e 36 casos foram provenientes de pacientes sem metástase em linfonodos regionais.

3.4.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos na amostra, apenas os casos de CCELI provenientes de ressecção cirúrgica, cujas fichas clínicas continham informações relativas ao sexo e idade dos pacientes, bem como ao tamanho/ extensão do tumor, metástase em linfonodos regionais, metástase à distância e estádio clínico. Além disso, só foram incluídos no estudo os casos com quantidade suficiente de material biológico que permitisse a confecção de lâminas com cortes histológicos que proporcionassem a realização das gradações histopatológicas de malignidade.

3.4.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas da amostra as lesões de pacientes submetidos previamente à radioterapia ou quimioterapia. Além disso, foram excluídos da pesquisa os casos provenientes de biópsia incisional, pois poderiam apresentar quantidades insuficientes de material biológico para realização das gradações histopatológicas de malignidade.

3.5 VARIÁVEIS

As variáveis independentes e dependentes, analisadas no presente estudo, estão listadas no Quadros 1 e 2, respectivamente.

Quadro 1. Elenco de variáveis independentes analisadas no estudo.

VARIÁVEL	DEFINIÇÃO	CATEGORIA
Sexo	Sexo do paciente	Masculino Feminino
Idade	Idade do paciente (em anos)	-
Tamanho/ extensão do tumor	Tamanho do tumor em centímetros	T1 T2 T3 T4a ou T4b
Metástase em linfonodos regionais	Presença de metástase linfonodal regional	N0 N1 N2 N3
Metástase à distância	Presença de metástase à distância	M0 M1
Estádio clínico	Classificação da lesão considerando o tamanho do tumor (T), a metástase regional (N) e a metástase à distância (M)	Estádio 0 Estádio I Estádio II Estádio III Estádio IVa, IVb ou Ivc

Quadro 2. Elenco de variáveis dependentes analisadas no estudo.

VARIÁVEL	DEFINIÇÃO	CATEGORIA
SGHM proposto por Bryne *et al.* (1992), adaptado por Silveira *et al*. (2007)	Classificação histopatológica do tumor considerando o grau de ceratinização, pleomorfismo nuclear, padrão de invasão e infiltrado linfocítico	Baixo grau de malignidade Alto grau de malignidade

SGHM proposto pela OMS (CARDESA *et al*., 2005)	Classificação histopatológica do tumor considerando o grau de diferenciação celular	Bem diferenciado Moderadamente diferenciado Pobremente diferenciado
SGHM proposto por Brandwein-Gensler *et al*. (2005)	Classificação histopatológica do tumor considerando o pior padrão de invasão, infiltrado linfocítico e invasão perineural	Baixo risco Risco intermediário Alto risco

3.6 ESTUDO CLÍNICO

Informações a respeito do sexo e idade dos pacientes, bem como em relação ao tamanho/ extensão do tumor, presença de metástase em linfonodos regionais, metástase à distância e estádio clínico foram coletadas nos prontuários médicos dos pacientes tratados no Hospital Napoleão Laureano/ João Pessoa – PB e anotados em fichas apropriadas (APÊNDICE A). Para o estadiamento clínico, foram utilizados os parâmetros elencados na sexta edição da Classificação TNM dos Tumores Malignos (SOBIN; WITTEKIND, 2002), os quais são apresentados nos Quadros 3 e 4.

Quadro 3. Sistema de estadiamento clínico TNM para o carcinoma de células escamosas de lábio, preconizado por Sobin e Wittekind (2002).

TAMANHO/ EXTENSÃO DO TUMOR PRIMÁRIO (T)	
TX	O tumor primário não pode ser avaliado
T0	Não há evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor com 2 cm ou menos em sua maior dimensão
T2	Tumor com mais de 2 cm e até 4 cm em sua maior dimensão
T3	Tumor com mais de 4 cm em sua maior dimensão
T4a	Tumor que invade estruturas adjacentes: cortical óssea, nervo alveolar inferior, assoalho da boca, ou pele da face (queixo ou nariz)
T4b	Tumor que invade o espaço mastigador, lâminas pterigóides ou base do crânio ou envolve artéria carótida interna

ENVOLVIMENTO DE LINFONODO REGIONAL (N)	
NX	Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	Ausência de metástase em linfonodos regionais
N1	Metástase em um único linfonodo homolateral, com 3 cm ou menos em sua maior dimensão
N2	N2a – Metástase em um único linfonodo homolateral com mais de 3 cm e até 6 cm em sua maior dimensão N2b – Metástase em linfonodos homolaterais múltiplos, nenhum deles com mais de 6 cm em sua maior dimensão N2c – Metástase em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais de 6 cm em sua maior dimensão
N3	Metástase em linfonodo com mais de 6 cm em sua maior dimensão
ENVOLVIMENTO POR METÁSTASES DISTANTES (M)	
MX	A presença de metástase à distância não pode ser avaliada
M0	Ausência de metástase à distância
M1	Metástase à distância

Quadro 4. Categorias de estadiamento clínico TNM para o carcinoma de células escamosas de lábio, preconizado por Sobin e Wittekind (2002).

ESTÁDIO	CLASSIFICAÇÃO TNM
Estádio 0	Tis N0 M0
Estádio I	T1 N0 M0
Estádio II	T2 N0 M0
Estádio III	T1, T2 N1 M0 T3 N0, N1 M0
Estádio IVA	T1, T2, T3 N2 M0 T4a N0, N1, N2 M0
Estádio IVB	Qualquer T N3 M0 T4b Qualquer N M0
Estádio IVC	Qualquer T Qualquer N M1

3.7 ESTUDO MORFOLÓGICO

A amostra selecionada, fixada em formol a 10% e incluída em parafina, foi submetida a cortes com 5μm de espessura. Em sequência, os cortes foram estendidos em lâminas de vidro e submetidos à coloração de rotina da hematoxilina e eosina, de acordo com o protocolo descrito a seguir:

- ⇒ Xilol 1 (10 minutos);
- ⇒ Xilol 2 (10 minutos);
- ⇒ Álcool etílico absoluto (5 minutos);
- ⇒ Álcool etílico 95° (5 minutos);
- ⇒ Álcool etílico 70° (5 minutos);
- ⇒ Álcool etílico 70° (5 minutos);
- ⇒ Água corrente (5 minutos);
- ⇒ Hematoxilina de Harris (2 minutos);
- ⇒ Água corrente (5 minutos);
- ⇒ Eosina de Lison (3 minutos);
- ⇒ Álcool etílico absoluto (5 minutos);
- ⇒ Álcool etílico absoluto (5 minutos);
- ⇒ Álcool etílico absoluto (5 minutos);
- ⇒ Xilol I (5 minutos);
- ⇒ Xilol II (5 minutos);
- ⇒ Xilol III (5 minutos);
- ⇒ Montagem da lamínula na lâmina em resina *Permount*® (Fisher Scientific Inc., Fair Lawn, NJ, USA).

Sob microscopia de luz (Leica DM 500, Leica Microsystems Vertrieb GmbH, Wetzlar, DE), dois examinadores previamente treinados realizaram a análise dos espécimes, no *front* de invasão tumoral, de acordo com o sistema proposto por Bryne et al. (1992) (QUADRO 5).

Quadro 5. Sistema de gradação histopatológica de malignidade no *front* de invasão, proposto por Bryne et al. (1992).

ASPECTOS MORFOLÓGICOS	**ESCORE DE MALIGNIDADE**			
	1	**2**	**3**	**4**
Grau de ceratinização	Alto (> 50% das células)	Moderado (20-50% das células)	Baixo (>5<20% das células)	Ausente (0-5% das células)
Pleomorfismo nuclear	Pouco (>75% de células maduras)	Moderado (50 a 75% de células maduras)	Intenso (>25< 50 % de células maduras)	Extremo (0 a 25% de células maduras)
Padrão de invasão	Bordas infiltrativas bem delimitadas	Cordões, bandas e/ ou trabéculas sólidas infiltrativas	Pequenos grupos ou cordões de células infiltrativas (n>15)	Infiltração difusa e pronunciada, em pequenos grupos celulares e/ ou células individuais (n<15)
Infiltrado inflamatório	Intenso	Moderado	Escasso	Ausente

Os escores obtidos em cada um dos parâmetros foram somados, obtendo-se o escore final de malignidade do caso. As lesões com escore final igual ou menor que 8 foram classificadas como de baixo grau de malignidade. Por sua vez, os tumores com escore final igual ou superior a 9 foram classificados como de alto grau de malignidade (SILVEIRA et al., 2007).

Com base no sistema proposto pela OMS (CARDESA et al., 2005) (QUADRO 6), toda a extensão do tumor foi avaliada e os casos foram classificados em: bem, moderadamente e pobremente diferenciados. De acordo com este SGHM, lesões bem diferenciadas se assemelham ao epitélio escamoso normal, ao passo que lesões moderadamente diferenciadas exibem pleomorfismo nuclear distinto e atividade mitótica, incluindo mitoses atípicas, além de menor ceratinização. Nos carcinomas pobremente diferenciados, células imaturas predominam, com numerosas mitoses típicas e atípicas, além de mínima ceratinização (CARDESA et al., 2005).

Quadro 6. Sistema de gradação histopatológica de malignidade proposto pela OMS (CARDESA et al., 2005).

CLASSIFICAÇÃO	CARACTERÍSTICAS
Bem diferenciado	Arquitetura tecidual semelhante ao padrão normal do epitélio escamoso
Moderadamente diferenciado	Certo grau de pleomorfismo nuclear e atividade mitótica Pouca ceratinização
Pobremente diferenciado	Predomínio de células imaturas Numerosas mitoses típicas e atípicas Mínima ceratinização

Para o SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al. (2005), o pior padrão de invasão, o infiltrado linfocítico e a invasão perineural foram avaliados, de acordo com os escores apresentados no Quadro 7.

Quadro 7. Sistema de gradação histopatológica de malignidade proposto por Brandwein-Gensler et al. (2005).

VARIÁVEL	DEFINIÇÃO	ESCORE
Pior padrão de invasão		
Tipo 1	Compressivo, com bordas infiltrativas bem delimitadas	0
Tipo 2	Bandas infiltrativas ou grandes ilhas separadas, com aspecto estrelado	0
Tipo 3	Grandes ilhas separadas (mais de 15 células)	0
Tipo 4	Pequenas ilhas (menos de 15 células) ou células individuais	+ 1
Tipo 5	Ilhas tumorais de qualquer tamanho, com pelo menos 1 mm de tecido normal entre estas e a interface tumor/ hospedeiro	+ 3
Infiltrado linfocítico		
Tipo 1	Banda contínua de infiltrado linfocítico denso	0
Tipo 2	Placas descontínuas de infiltrado linfocítico	+ 1
Tipo 3	Pouco ou nenhum infiltrado linfocítico	+ 3
Invasão perineural		
Ausente	Sem invasão	0
Pequenos nervos	Invasão de nervos com diâmetro < 1mm	+ 1
Grandes nervos	Invasão de nervos com diâmetro ≥ 1mm	+ 3

Para o pior padrão de invasão e para o infiltrado linfocítico, a análise foi realizada na interface tumor/hospedeiro. Os escores obtidos em cada um dos parâmetros foram somados, obtendo-se o escore final de malignidade do caso. As lesões com escore final igual a 0 foram classificadas como de baixo risco. Por sua vez, os tumores com escore final igual a 1 ou 2 foram classificados como de risco intermediário. Finalmente, os casos com escore final igual ou superior a 3 foram classificados como de alto risco (BRANDWEIN-GENSLER et al., 2005).

Destaca-se que, para todos os SGHM, a gradação histopatológica foi realizada sem que os examinadores tivessem conhecimento dos dados clínicos relacionados ao caso. Os casos cujas gradações de malignidade, determinadas pelos examinadores, apresentaram-se discordantes foram resolvidos por consenso. Os dados obtidos com as análises morfológicas foram anotados em fichas apropriadas (APÊNDICE B).

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos com as análises clínico-morfológicas foram digitados em planilha eletrônica Excel (Microsoft Office 2007®) e posteriormente exportados para o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (versão 17.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA), no qual foram realizadas as análises estatísticas.

Possíveis associações entre o grau histopatológico de malignidade do tumor, determinado por meio do sistema proposto por Bryne et al. (1992), e os parâmetros clínicos (tamanho/ extensão do tumor, metástase em linfonodos regionais e estádio clínico) foram analisadas por meio do teste do Qui-quadrado. Para avaliar possíveis associações entre os parâmetros morfológicos isolados (grau de ceratinização, padrão de invasão, pleomorfismo nuclear e infiltrado inflamatório) e as características clínicas, foi utilizado o teste do Qui-quadrado ou, quando aplicável, o teste exato de Fisher.

Para a gradação histopatológica de malignidade proposta pela OMS (CARDESA et al., 2005), as lesões moderadamente e pobremente diferenciadas foram reunidas em um único grupo e comparadas, por meio do teste do Qui-quadrado, com as lesões bem diferenciadas.

Em relação ao SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al. (2005), tumores de baixo risco e de risco intermediário foram reunidos em um único grupo e comparados com aqueles de alto risco. Para isto, foi utilizado o teste do Qui-quadrado ou, quando aplicável, o

teste exato de Fisher. Para avaliar possíveis associações entre os parâmetros morfológicos isolados (pior padrão de invasão, infiltrado linfocítico e invasão perineural) e as características clínicas, foi utilizado o teste do Qui-quadrado ou, quando aplicável, o teste exato de Fisher.

Finalmente, possíveis associações entre os SGHM foram avaliadas pelo teste exato de Fisher. Para todos os testes estatísticos utilizados no presente estudo, o nível de significância foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

ARTIGO

4 ARTIGO

4.1 APRESENTAÇÃO

O projeto de pesquisa ora desenvolvido foi apresentado e aprovado em qualificação pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UEPB. Como resultado da execução deste projeto, 1 artigo é apresentado nesta dissertação: **Sistemas de gradação histopatológica de malignidade e sua relação com parâmetros clínicos em carcinomas de células escamosas de lábio inferior**. O referido artigo será submetido ao periódico *Journal of Cutaneous Pathology*, cujas normas para submissão de trabalhos se encontram no Anexo B.

4.2 ARTIGO A SER SUBMETIDO

Sistemas de gradação histopatológica de malignidade e sua relação com parâmetros clínicos em carcinomas de células escamosas de lábio inferior

Leonardo Henrique de Araújo Cavalcante[1], Hellen Bandeira de Pontes Santos[2], Amanda Lúcio do Ó Silva[2], Pollianna Muniz Alves[3], Gustavo Pina Godoy[3], Cassiano Francisco Weege Nonaka[3]

[1]*Aluno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, PB, Brasil.*
[2]*Acadêmica do Curso de Odontologia, Bolsista de Iniciação Científica PIBIC/ CNPq, Universidade estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, PB, Brasil.*
[3]*Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, PB, Brasil.*

Autor correspondente:
Cassiano Francisco Weege Nonaka, DDS, PhD
Universidade Estadual da Paraíba
Departamento de Odontologia – Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Rua Juvêncio Arruda, s/n – Bodocongó – Campina Grande – PB – Brasil
CEP 58429-600 Phone/ Fax: +55 83 3315-3471
e-mail: cfwnonaka@gmail.com

Resumo

Objetivo: Pesquisas têm sugerido que os sistemas de gradação histopatológica de malignidade (SGHM) podem ser úteis para indicar agressividade tumoral e, dessa forma, suplementar o sistema de estadiamento clínico de tumores (TNM). O objetivo deste estudo foi avaliar o grau histopatológico de malignidade em uma série de casos de carcinomas de células escamosas de lábio inferior (CCELI), por meio de 3 SGHM (sistema de gradação no *front* de invasão, sistema de gradação da Organização Mundial da Saúde [OMS] e modelo histopatológico de análise de risco), e relacioná-lo com parâmetros clínicos.

Métodos: Cortes histológicos corados em hematoxilina e eosina, obtidos de 59 casos de CCELI, foram avaliados sob microscopia de luz. Associações entre o grau de malignidade das lesões e os parâmetros clínicos (tamanho/ extensão do tumor, metástase em linfonodos regionais e estádio clínico) foram avaliadas pelos testes do Qui-quadrado e exato de Fisher.

Resultados: Para a gradação no *front* de invasão, foi observada associação significativa do baixo grau de malignidade com a ausência de metástase linfonodal regional ($p = 0,030$) e com o estádio clínico inicial ($p = 0,043$). Por outro lado, o alto grau de malignidade no *front* de invasão revelou associação significativa com o maior tamanho/ extensão do tumor ($p = 0,040$). Em relação ao sistema da OMS, não foram observadas associações estatisticamente significativas entre os parâmetros clínicos analisados e o grau histopatológico dos tumores ($p > 0,05$). Para o modelo de análise de risco, foi constatada associação altamente significativa do escore de risco com a metástase em linfonodos regionais ($p = 0,004$) e com o estádio clínico ($p = 0,002$). Além disso, foi observada associação significativa do infiltrado linfocítico com a metástase linfonodal regional ($p = 0,017$) e com o estádio clínico ($p = 0,040$).

Conclusões: Os achados do presente estudo sugerem que, dentre os SGHM analisados, o modelo histopatológico de análise de risco pode constituir o melhor sistema para indicar o comportamento biológico nos CCELI.

Palavras-chave

Lábio, Carcinoma de células escamosas, Sistemas de gradação histopatológica, Histopatologia.

Introdução

O carcinoma de células escamosas (CCE) é uma neoplasia maligna derivada do epitélio pavimentoso estratificado que reveste tanto a cavidade oral quanto o vermelhão do lábio, constituindo a lesão maligna mais comum em lábio inferior.[1,2] Quando diagnosticado em fases iniciais, o prognóstico para os pacientes com carcinoma de células escamosas de lábio inferior (CCELI) é considerado bom, com taxas de sobrevida em 5 anos que variam de 80% a 90%.[3,4] Embora metástases linfonodais cervicais sejam identificadas em apenas 6,6% a 26,5% dos casos,[3,5,6] nestas situações, apenas 25% a 50% dos pacientes atingem a sobrevida de 5 anos, configurando um pior prognóstico.[4–8]

O sistema de estadiamento clínico de tumores (TNM), que avalia a extensão do tumor primário (T), as metástases em linfonodos regionais (N) e as metástases à distância (M), tem sido utilizado como padrão internacional para classificar as neoplasias malignas em estádios e estimar tanto a resposta clínica à terapia quanto a sobrevida dos pacientes.[9–11] No entanto, alguns casos de CCE, diagnosticados em estádios iniciais e tratados corretamente, evoluem com recorrências locais e disseminação metastática, determinando, por fim, o óbito do paciente. Tais constatações têm suscitado a busca por outros fatores prognósticos capazes de suplementar o sistema TNM.[11–14]

Com o intuito fornecer conhecimentos adicionais que pudessem explicar o comportamento biológico discrepante de tumores com características clínicas aparentemente semelhantes, foram desenvolvidos vários sistemas de gradação histopatológica de malignidade (SGHM) para o carcinoma de células escamosas oral (CCEO),[11] com destaque para aqueles propostos por Broders,[15] Anneroth et al.,[16] Bryne et al.[17] e pela Organização Mundial da Saúde (OMS).[18] Embora os estudos existentes na literatura apresentem resultados discordantes em relação à utilidade destes SGHM como indicadores de prognóstico para CCEO e CCELI,[10–13,19–23] pesquisas recentes têm destacado o potencial do sistema desenvolvido por Brandwein-Gensler et al.[24] na indicação da presença de metástase linfonodal e predição de recorrência local e sobrevida geral dos pacientes com CCEO.[11,14,23,25,26] Apesar destes importantes achados, até o momento, não há estudos sobre a possível utilidade do SGHM desenvolvido por Brandwein-Gensler et al.[24] na determinação do prognóstico em CCELI (Pubmed Database – Acesso em 28 de março de 2013).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o grau histopatológico de malignidade em uma série de casos de CCELI, por meio do sistema de gradação no *front* de invasão,[17] do sistema de gradação da OMS[18] e do modelo histopatológico de análise de risco,[24] e relacioná-lo com parâmetros clínicos. Pretendeu-se, com esta pesquisa, verificar a

possível utilização destes sistemas como indicadores de comportamento biológico nos CCELI.

Materiais e métodos

Espécimes

Para o presente estudo, foram selecionados 59 casos de CCELI, obtidos dos arquivos do Hospital Napoleão Laureano, João Pessoa, PB, Brasil. Foram incluídos na amostra, apenas os casos de CCELI provenientes de resecções cirúrgicas, cujos blocos em parafina apresentavam quantidade suficiente de material biológico para análise histopatológica. Lesões de pacientes submetidos a tratamento prévio radioterápico ou quimioterápico e casos sem informações completas, contidas em prontuários, em relação ao sexo e idade dos pacientes, bem como ao tamanho/ extensão do tumor, presença de metástase em linfonodos regionais, metástase à distância e estádio clínico foram excluídos do estudo. Para o estadiamento clínico, foram utilizados os parâmetros elencados na sexta edição da Classificação TNM dos Tumores Malignos.[9] Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UEPB (protocolo nº: 180.328), Campina Grande, PB, Brasil.

Análise histopatológica

A amostra selecionada, fixada em formol a 10% e emblocada em parafina, foi submetida a cortes com 5μm de espessura, os quais foram estendidos em lâminas de vidro e submetidos à coloração de rotina da hematoxilina e eosina. Sob microscopia de luz (Leica DM 500, Leica Microsystems Vertrieb GmbH, Wetzlar, DE) e sem conhecimento dos dados clínicos relacionados aos casos, dois examinadores previamente treinados realizaram a análise histopatológica dos espécimes, de acordo com os SGHM propostos por Bryne et al.,[17] OMS[18] e Brandwein-Gensler et al.[24] Os casos nos quais as gradações histopatológicas de malignidade, determinadas pelos examinadores, apresentaram-se discordantes foram resolvidos por consenso.

Para o sistema proposto por Bryne et al.,[17] a gradação histopatológica de malignidade foi realizada no *front* de invasão tumoral. Neste SGHM, são atribuídos escores de 1 a 4 para os seguintes parâmetros: grau de ceratinização, pleomorfismo nuclear, padrão de invasão e infiltrado inflamatório (Tabela 1). Em sequência, os escores são somados para ser obtido o escore final de malignidade do caso. Com base na metodologia utilizada por Silveira et al.,[22] lesões com escore final igual ou menor que 8 foram classificadas como de baixo grau de

malignidade. Por sua vez, os tumores com escore final igual ou superior a 9 foram classificados como de alto grau de malignidade.[22]

Com base no SGHM proposto pela OMS,[18] os tumores foram analisados em toda a sua extensão e classificados em bem, moderadamente e pobremente diferenciados. De acordo com este sistema, lesões bem diferenciadas se assemelham ao epitélio escamoso normal, ao passo que lesões moderadamente diferenciadas exibem pleomorfismo nuclear distinto e atividade mitótica, incluindo mitoses atípicas, além de menor ceratinização. Nos carcinomas pobremente diferenciados, células imaturas predominam, com numerosas mitoses típicas e atípicas, além de mínima ceratinização.[18]

Para o modelo histopatológico de análise de risco,[24] o pior padrão de invasão, o infiltrado linfocítico e a invasão perineural foram avaliados (Tabela 2). Os primeiros dois parâmetros foram avaliados na interface tumor/hospedeiro. Os escores obtidos em cada um dos parâmetros foram somados, obtendo-se o escore final de malignidade do caso. As lesões com escore final igual a 0 foram classificadas como de baixo risco. Por sua vez, os tumores com escore final igual a 1 ou 2 foram classificados como de risco intermediário. Finalmente, os casos com escore final igual ou superior a 3 foram classificados como de alto risco.[24]

Análise estatística

Os resultados obtidos com as análises clínico-morfológicas foram submetidos à análise estatística, com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (versão 17.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Possíveis associações entre o grau histopatológico de malignidade do tumor, determinado por meio do sistema proposto por Bryne et al.,[17] e os parâmetros clínicos (tamanho/ extensão do tumor, metástase em linfonodos regionais e estádio clínico) foram analisadas por meio do teste do Qui-quadrado. Possíveis associações entre os parâmetros morfológicos isolados (grau de ceratinização, padrão de invasão, pleomorfismo nuclear e infiltrado inflamatório) e as características clínicas foram analisadas pelo teste do Qui-quadrado ou, quando aplicável, pelo teste exato de Fisher.

Para o SGHM proposto pela OMS,[18] as lesões moderadamente e pobremente diferenciadas foram reunidas em um único grupo e comparadas, por meio do teste do Qui-quadrado, com as lesões bem diferenciadas.

Em relação ao SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al.,[24] tumores de baixo risco e de risco intermediário foram reunidos em um único grupo e comparados com aqueles de alto risco. Para isto, foi utilizado o teste do Qui-quadrado ou, quando aplicável, o teste exato de Fisher. Para avaliar possíveis associações entre os parâmetros morfológicos isolados

(pior padrão de invasão, infiltrado linfocítico e invasão perineural) e as características clínicas, foi utilizado o teste do Qui-quadrado ou, quando aplicável, o teste exato de Fisher.

Finalmente, possíveis associações entre os SGHM foram avaliadas pelo teste exato de Fisher. Para todos os testes estatísticos utilizados no presente estudo, o nível de significância foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

Resultados

Dos 59 casos de CCELI analisados no presente estudo, 45 (76,3%) foram diagnosticados em pacientes do sexo masculino e 14 (23,7%) em pacientes do sexo feminino, com proporção homem:mulher de 3.2:1. A idade dos pacientes variou de 22 a 86 anos, com uma média de 59,6±18,4 anos. Em relação ao tamanho/ extensão do tumor e a metástase linfonodal regional, foi observada maior frequência de casos com classificação T2 (54,2%) e N0 (61,0%). Por sua vez, metástase à distância foi identificada em apenas 1 (1,7%) dos 59 casos. Com relação ao estadiamento clínico, constatou-se maior frequência dos estádios II (32,2%) e III (32,2%), seguidos dos estádios I (25,4%) e IV (10,2%) (Tabela 3).

Em relação à gradação histopatológica de malignidade, a análise no *front* de invasão tumoral revelou 23 casos (39,0%) com baixo grau de malignidade (Fig. 1A) e 36 casos (61,0%) com alto grau de malignidade (Fig. 1B). Por sua vez, a análise por meio do SGHM proposto pela OMS revelou maior frequência de lesões moderadamente diferenciadas (42,4%), seguidas das lesões bem diferenciadas (32,2%) (Fig. 1C) e das pobremente diferenciadas (25,4%) (Fig. 1D). Com base no modelo histopatológico de análise de risco, a maioria dos casos foi classificada como de risco intermediário (40,7%) (Fig. 1E), com frequências menores para as lesões de alto (30,5%) (Figs. 1F e 1G) e baixo risco (28,8%) (Fig. 1H) (Tabela 3).

Ao relacionar os parâmetros clínicos com a gradação histopatológica de malignidade no *front* de invasão tumoral, o teste do Qui-quadrado revelou associação estatisticamente significativa do alto grau de malignidade da lesão com o maior tamanho/ extensão do tumor ($p = 0,040$). De forma similar, foi observada associação estatisticamente significativa do baixo grau de malignidade dos tumores com a ausência de metástase em linfonodos regionais ($p = 0,030$) e com o estádio clínico inicial ($p = 0,043$) (Tabela 4). Por outro lado, a análise isolada do grau de ceratinização, do padrão de invasão, do pleomorfismo nuclear e do infiltrado inflamatório não revelou associação com nenhum dos parâmetros clínicos avaliados ($p > 0,05$) (Tabela 5).

Como a metástase à distância foi identificada em apenas 1 caso da presente amostra, não foi possível realizar análises estatísticas para avaliar possíveis associações entre este parâmetro clínico e o grau histopatológico de malignidade dos tumores.

Em relação ao SGHM proposto pela OMS, o teste do Qui-quadrado revelou ausência de associação estatisticamente significativa do grau histopatológico de malignidade com o tamanho/ extensão do tumor (p = 0,086), a metástase em linfonodos regionais (p = 0,422) e o estadiamento clínico (p = 0,554) (Tabela 4).

Para o modelo histopatológico de análise de risco, o teste do Qui-quadrado revelou associação altamente significativa do escore de risco com a metástase em linfonodos regionais (p = 0,004) e com o estádio clínico (p = 0,002). Por outro lado, o teste exato de Fisher demonstrou ausência de associação estatisticamente significativa entre o tamanho/ extensão do tumor e o escore de risco (p = 0,370) (Tabela 4). Em relação aos parâmetros isolados, o teste exato de Fisher revelou associação estatisticamente significativa do infiltrado linfocítico com a metástase linfonodal regional (p = 0,017) e com o estádio clínico (p = 0,040). Por sua vez, o pior padrão de invasão e a invasão perineural não exibiram associações significativas com nenhum dos parâmetros clínicos avaliados (p > 0,05) (Tabela 6).

O teste exato de Fisher revelou associação altamente significativa entre os SGHM, com a maioria das lesões de alto risco (94,4%) classificadas como moderadamente/ pobremente diferenciadas (p = 0,004), de acordo com sistema da OMS, e como de alto grau (p < 0,001), de acordo com o SGHM no *front* de invasão tumoral. Além disso, a maioria dos casos moderadamente/ pobremente diferenciados (82,5%) foram classificados como de alto grau no *front* de invasão tumoral (p < 0,001).

Discussão

O sistema TNM tem sido utilizado como padrão internacional para auxiliar na determinação dos protocolos terapêuticos para as neoplasias malignas e estimar a sobrevida dos pacientes.[9–11] Entretanto, este sistema nem sempre é capaz de estabelecer o desfecho clínico para os pacientes com CCEO,[11] fato que tem estimulado a realização de estudos com o objetivo de identificar fatores capazes de suplementar o sistema TNM na determinação do prognóstico para os pacientes com estes tumores. Neste contexto, historicamente, os SGHM assumem posição de destaque.[11,13,14]

No presente estudo, o grau histopatológico de malignidade foi analisado, por meio de 3 SGHM, em uma série de casos de CCELI. O valor prognóstico dos sistemas propostos por Bryne et al.[17] e pela OMS[18] já foi avaliado em pesquisas com CCEO e CCELI, com resultados

divergentes.[10–13,19–23] Por outro lado, até o momento, não há estudos com o modelo histopatológico de análise de risco[24] em CCELI (Pubmed Database). Dentre os SGHM selecionados para a presente pesquisa, o sistema da OMS[18] se diferencia dos sistemas de Bryne et al.[17] e Brandwein-Gensler et al.[24] por avaliar apenas as células neoplásicas, com ênfase no grau de diferenciação celular. Por sua vez, o sistema de gradação no *front* de invasão[17] e o modelo histopatológico de análise de risco[24] analisam características relacionadas tanto às células neoplásicas quanto à resposta do hospedeiro.

Em relação ao SGHM proposto pela OMS,[18] na presente pesquisa, foi observada ausência de associação estatisticamente significativa do grau histopatológico de malignidade com o tamanho/ extensão do tumor (p = 0,086), a metástase em linfonodos regionais (p = 0,422) e o estadiamento clínico (p = 0,554). Em contraposição a estes achados, Quaedvlieg et al.[12] avaliaram 63 CCE de lábio e verificaram que o grau histopatológico de malignidade do tumor (bem, moderado e pobremente diferenciado) se apresentou como importante indicador do desenvolvimento de metástase. Resultados similares foram relatados por Zitsch et al.,[27] em estudo com 1001 casos de CCE de lábio. Em consonância com estes achados, Lindenblatt et al.[11] observaram associação estatisticamente significativa do grau de malignidade em CCEO, determinado pelo sistema da OMS, com a recorrência local e a sobrevida livre de doença.

Em contraposição aos achados descritos anteriormente, Weijers et al.[13] avaliaram 128 casos de CCEO e não observaram associação estatisticamente significativa do grau histopatológico de malignidade, determinado pelo sistema da OMS, com a presença de metástase linfonodal regional, a recorrência local e a sobrevida dos pacientes. De forma similar, de Visscher et al.,[20] em um estudo com 184 CCELI, não constataram associação do grau histopatológico de malignidade, determinado com base no grau de diferenciação celular, com o desenvolvimento de recorrência local e metástase linfonodal regional. Além disso, na pesquisa de Batista et al.,[1] 100% dos casos de CCELI se apresentaram bem diferenciados, de acordo com a classificação da OMS, independente do tamanho/ extensão do tumor primário. Em conjunto, estes achados sugerem que o SGHM proposto pela OMS não constitui um bom indicador de comportamento biológico nos CCELI.

Possivelmente, a falta de associação entre o SGHM proposto pela OMS[18] e os parâmetros clínicos analisados na presente série de casos de CCELI, está relacionada à ênfase dada neste sistema para a avaliação do grau de diferenciação das células tumorais, sem considerar elementos da resposta do hospedeiro. Embora não sejam considerados no SGHM proposto pela OMS,[18] de acordo com recomendações desta Organização, a avaliação de outras características morfológicas, como o padrão de invasão e a espessura do tumor, o infiltrado

linfocítico e as invasões vascular e perineural, poderia auxiliar na determinação do prognóstico para pacientes com CCE.[18,28]

Para a gradação no *front* de invasão tumoral, no presente estudo, foi observada associação significativa do baixo grau de malignidade dos tumores com a ausência de metástase em linfonodos regionais (p = 0,030) e com o estádio clínico inicial (p = 0,043). Por sua vez, o alto grau de malignidade no *front* de invasão revelou associação significativa apenas com o maior tamanho/ extensão do tumor (p = 0,040). Em concordância com estes achados, Piffkò et al.[19] constataram, por meio de análise multivariada, correlação entre o grau histopatológico de malignidade de CCEO, determinado pelo sistema proposto por Bryne et al.,[17] e a recorrência da doença, o desenvolvimento de metástase e a menor sobrevida geral dos pacientes. Além disso, Kurokawa et al.,[21] em estudo com 124 CCE de língua, identificaram que o alto grau de malignidade no *front* de invasão estava associado à presença de metástase linfonodal e ao menor tempo de sobrevida livre de doença.

Apesar destes achados importantes, deve-se ressaltar que, na presente pesquisa, não foi observada tendência de associação do alto grau de malignidade no *front* de invasão tumoral com a metástase em linfonodos regionais e com o estádio clínico, parâmetros de reconhecido impacto no prognóstico dos pacientes com CCELI.[4–8] Dessa forma, os resultados deste estudo sugerem que o SGHM proposto por Bryne et al.[17] exibe um potencial limitado para indicar o comportamento biológico nos CCELI.

No entanto, outros estudos com CCE de língua e de outras regiões intraorais não identificaram relação entre o grau histopatológico de malignidade no *front* de invasão, determinado pelo SGHM proposto por Bryne et al.,[17] e a metástase linfonodal, o estadiamento clínico, o desfecho da doença e o tempo de sobrevida dos pacientes.[11,22,29] De acordo com Lindenblatt et al.,[11] as divergências encontradas na literatura sobre o potencial prognóstico do SGHM proposto por Bryne et al.[17] para o CCEO podem estar relacionadas à falta de padronização dos escores adotados para a classificação final do grau histopatológico de malignidade dos tumores. Os autores ressaltaram, ainda, que a grande quantidade de parâmetros morfológicos neste sistema diminui a consistência intra- e interexaminador.[11]

Pesquisas têm evidenciado associações entre os parâmetros isolados que constituem o SGHM de Bryne et al.[17] (grau de ceratinização, padrão de invasão, pleomorfismo nuclear e infiltrado inflamatório) e diversas características clínicas, em casos de CCEO. Sawair et al.[10] observaram associação significativa do padrão de invasão e do grau de ceratinização com a metástase linfonodal em CCEO. De forma similar, Högmo et al.[29] constataram associação estatisticamente significativa do pleomorfismo nuclear com a recorrência locorregional dos

CCEO. Por sua vez, Costa et al.[30] observaram associação do estádio clínico do CCEO com o infiltrado inflamatório e o pleomorfismo nuclear. A despeito destes resultados, no presente estudo, a análise isolada dos parâmetros morfológicos que constituem o SGHM proposto por Bryne et al.[17] não revelou associação com nenhum dos aspectos clínicos avaliados ($p > 0,05$). Estes achados sugerem que apenas o escore final de malignidade no *front* de invasão, em detrimento aos parâmetros morfológicos isolados que compõem o sistema proposto por Bryne et al.,[17] possui potencial para indicar o comportamento biológico nos CCELI.

Dentre os diversos SGHM para o CCEO, tem recebido destaque na literatura o sistema desenvolvido por Brandwein-Gensler et al.[24] Apesar de escassos, os trabalhos publicados têm enaltecido o potencial deste sistema para a indicação da presença de metástase linfonodal e predição de recorrência local e sobrevida geral dos pacientes com CCE de orofaringe, laringe e cavidade oral.[11,14,23,25,26] Neste sistema de escore de 3 níveis, são analisados o pior padrão de invasão, o infiltrado linfocítico e a invasão perineural.[24,25] Os escores obtidos em cada um destes parâmetros são somados, determinando um escore de risco para o paciente.[24,25]

No presente estudo, foi observada associação altamente significativa do escore de risco nos CCELI com a metástase em linfonodos regionais ($p = 0,004$) e com o estádio clínico ($p = 0,002$). Em consonância com estes resultados, de Matos et al.[26] observaram associação estatisticamente significativa do alto escore de risco com a presença de metástase linfonodal regional em 62 CCE de língua. Por sua vez, em um estudo com 50 CCE de língua, Vered et al.[14] identificaram, por meio da análise do escore de risco, um grupo de pacientes abaixo dos 60 anos de idade que apresentavam altas taxas de recidiva local, independente do status das margens cirúrgicas.

Lindenblatt et al.[11] analisaram o grau histopatológico de malignidade em 53 casos de CCEO, por meio dos sistemas propostos por Anneroth et al.,[16] Bryne et al.,[17] OMS[18] e Brandwein-Gensler et al.,[24] e relacionaram seus achados a diversos parâmetros clínicos. De acordo com os autores, o modelo histopatológico de análise de risco revelou os melhores resultados estatísticos, exibindo associações com a sobrevida geral, a sobrevida tumor-específica e a sobrevida livre de doença. Para Lindenblatt et al.,[11] o SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al.[24] seria o melhor sistema para indicar o comportamento biológico e o prognóstico nos CCEO. Em congruência com estes achados, os resultados do presente estudo sugerem que o modelo histopatológico de análise de risco, em detrimento aos SGHM propostos por Bryne et al.[17] e pela OMS,[18] pode constituir o melhor sistema para indicar o comportamento biológico nos CCELI.

A análise isolada dos parâmetros que compõem o SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al.[24] (pior padrão de invasão, infiltrado linfocítico e invasão perineural), na presente amostra de CCELI, revelou associação estatisticamente significativa do infiltrado linfocítico com a metástase linfonodal regional (p = 0,017) e com o estádio clínico (p = 0,040). Em concordância com estes achados, Camisasca et al.[23] observaram que os pacientes com CCEO que apresentavam fraca resposta linfocítica, também exibiam os menores índices de sobrevida geral e de sobrevida câncer-específica. Em adição a estes achados, de Matos et al.[26] relataram associação estatisticamente significativa da presença de metástase linfonodal regional com a fraca resposta linfocítica e a presença de invasão perineural em CCE de língua. Por outro lado, dentre todos os parâmetros avaliados no modelo histopatológico de análise de risco, Vered et al.[14] observaram que apenas a invasão perineural se mostrou associada com a recorrência locorregional de CCE de língua.

A imunidade antitumoral tem sido sugerida como um fator importante para impedir o desenvolvimento e a progressão de neoplasias malignas.[26,31,32] Neste contexto, merecem destaque os linfócitos T, os quais são responsáveis pela imunidade específica, de longo prazo, contra as células tumorais.[31] Em consonância com as assertivas anteriores, Brandwein-Gensler et al.[25] sugeriram que a resposta linfocítica do hospedeiro aos CCE de cabeça e pescoço corresponde a uma resposta adaptativa constituída por células T citotóxicas, as quais se concentram em grandes quantidades na interface dos tumores com forte resposta linfocítica (tipo 1).

Pesquisas têm revelado que os CCELI exibem maior quantidade de linfócitos T CD8 e células *Natural Killer* (NK) em comparação com os CCEO,[31,32] sugerindo que a menor agressividade das lesões em lábio esteja relacionada não apenas a fatores etiológicos diferentes ou características do próprio sítio anatômico, mas à presença de uma resposta imune antitumoral mais efetiva. Em conjunto, os resultados do presente estudo e de outras investigações sugerem uma maior importância para a intensidade do infiltrado linfocítico, em comparação com o pior padrão de invasão e a invasão perineural, na progressão dos CCELI.

Em conclusão, os achados do presente estudo sugerem que, dentre os SGHM analisados, o modelo histopatológico de análise de risco pode constituir o melhor sistema para indicar o comportamento biológico nos CCELI. Estas observações, em conjunto com os resultados provenientes de estudos com CCEO,[11,14,23,25,26] alicerçam a realização de novas investigações para avaliar o potencial do sistema proposto por Brandwein-Gensler et al.[24] como fator preditivo para a recorrência local e a sobrevida geral de pacientes com CCELI.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Napoleão Laureano pelo auxílio na coleta dos espécimes utilizados no estudo.

Referências

1. Batista AC, Costa NL, Oton-Leite AF, Mendonça EF, Alencar RC, Silva TA. Distinctive clinical and microscopic features of squamous cell carcinoma of oral cavity and lip. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2010; 109: e74.
2. Zini A, Czerninski R, Sgan-Cohen HD. Oral cancer over four decades: epidemiology, trends, histology, and survival by anatomical sites. J Oral Pathol Med 2010; 39: 299.
3. Sargeran K, Murtomaa H, Safavi SM, Vehkalahti MM, Teronen O. Survival after lip cancer diagnosis. J Craniofac Surg 2009; 20: 248.
4. Gutiérrez-Pascual M, Vicente-Martín FJ, Fernández-Álvarez JG, Martín-López R, Pinedo-Moraleda F, López-Estebaranz JL. Squamous cell carcinoma of the lip: a retrospective study of 146 patients. J Eur Acad Dermatol Venereol 2012; 26: 1116.
5. Vukadinovic M, Jezdic Z, Petrovic M, Medenica LM, Lens M. Surgical management of squamous cell carcinoma of the lip: analysis of a 10-year experience in 223 patients. J Oral Maxillofac Surg 2007; 65: 675.
6. Salgarelli AC, Sartorelli F, Cangiano A, PAgani R, Collini M. Surgical treatment of lip cancer: our experience with 106 cases. J Oral Maxillofac Surg 2009; 67: 840.
7. Bilkay U, Kerem H, Ozek C, et al. Management of lower lip cancer: a retrospective analysis of 118 patients and review of the literature. Ann Plast Surg 2003; 50: 43.
8. Kornevs E, Skagers A, Tars J, Bigestans A, Lauskis G, Libermanis O. 5 year experience with lower lip cancer. Stomatologija 2005; 7: 95.
9. Sobin LH, Wittekind C. TNM classification of malignant tumors, 6th ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2002; 264.
10. Sawair FA, Irwin CR, Gordon DJ, Leonard AG, Stephenson M, Napier SS. Invasive front grading: reliability and usefulness in the management of oral squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med 2003; 32: 1.
11. Lindenblatt RC, Martinez GL, Silva LE, Faria PS, Camisasca DR, Lourenço SQ. Oral squamous cell carcinoma grading systems – analysis of the best survival predictor. J Oral Pathol Med 2012; 41: 34.

12. Quaedvlieg PJ, Creytens DH, Epping GG, et al. Histopathological characteristics of metastasizing squamous cell carcinoma of the skin and lips. Histopathology 2006; 49: 256.
13. Weijers M, Snow GB, Bezemer PD, van der Waal I. Malignancy grading is no better that conventional histopathological grading in small squamous cell carcinoma of tongue and floor of mouth: retrospective study in 128 patients. J Oral Pathol Med 2009; 38: 343.
14. Vered M, Dayan D, Dobriyan A, et al. Oral tongue squamous cell carcinoma: recurrent disease is associated with histopathologic risk score and young age. J Cancer Res Clin Oncol 2010; 136: 1039.
15. Broders AC. Squamous-cell epithelioma of the lip: a study of five hundred and thirty-seven cases. JAMA 1920; 74: 656.
16. Anneroth G, Batsakis J, Luna M. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. Scand J Dent Res 1987; 95: 229.
17. Bryne M, Koopang HS, Lilleng R, Kjaerheim A. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. J Pathol 1992; 166: 375.
18. Cardesa A, Gale N, Nadal A, Zidar N. Squamous cell carcinoma. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, eds. World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of head and neck tumors. Lyon: IARC Press, 2005; 118.
19. Piffkò J, Bànkfalvi A, Ofner D, et al. Prognostic value of histobiological factors (malignancy grading and AgNOR content) assessed at the invasive tumour front of oral squamous cell carcinomas. Br J Cancer 1997; 75: 1543.
20. de Visscher JG, van den Elsaker K, Grond AJ, van der Wal JE, van der Waal I. Surgical treatment of squamous cell carcinoma of the lower lip: evaluation of long-term results and prognostic factors – a retrospective analysis of 184 patients. J Oral Maxillofac Surg 1998; 56: 814.
21. Kurokawa H, Zhang M, Matsumoto S, et al. The high prognostic value of the histologic grade at the deep invasive front of tongue squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med 2005; 34: 329.
22. Silveira EJ, Godoy GP, Lins RD, et al. Correlation of clinical, histological, and cytokeratin profiles of the squamous cell carcinoma of the oral tongue with prognosis. Int J Surg Pathol 2007; 15: 376.

23. Camisasca DR, Silami MA, Honorato J, Dias FL, de Faria PA, Lourenço SQ. Oral squamous cell carcinoma: clinicopathological features in patients with and without recurrence. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec 2011; 73: 170.
24. Brandwein-Gensler M, Teixeira MS, Lewis CM, et al. Oral squamous cell carcinoma: histologic risk assessment, but not margin status, is strongly predictive of local disease-free and overall survival. Am J Surg Pathol 2005; 29: 167.
25. Brandwein-Gensler M, Smith RV, Wang B, et al. Validation of the histologic risk model in a new cohort of patients with head and neck squamous cell carcinoma. Am J Surg Pathol 2010; 34: 676.
26. de Matos FR, Lima ED, Queiroz LM, da Silveira EJ. Analysis of inflammatory infiltrate, perineural invasion, and risk score can indicate concurrent metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue. J Oral Maxillofac Surg 2012; 70: 1703.
27. Zitsch RP 3rd, Lee BW, Smith RB. Cervical lymph node metastases and squamous cell carcinoma of the lip. Head Neck 1999; 21: 447.
28. Johnson N, Franceschi S, Ferlay J, et al. Squamous cell carcinoma. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, eds. World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of head and neck tumors. Lyon: IARC Press, 2005; 168.
29. Högmo A, Kuylenstierna R, Lindholm J, Munck-Wikland E. Predictive value of malignancy grading systems, DNA content, p53, and angiogenesis for stage I tongue carcinomas. J Clin Pathol 1999; 52: 35.
30. Costa ALL, Araújo Júnior RF, Ramos CC. Correlation between TNM classification and malignancy histological feature of oral squamous cell carcinoma. Braz J Otorhinolaryngol 2005; 71: 181.
31. da Silveira EJ, Miguel MC, Lima KC, Freitas Rde A, de Morais Mde L, Queiroz LM. Analysis of local immunity in squamous cell carcinoma of the tongue and lower lip. Exp Mol Pathol 2010; 88: 171.
32. Zancope E, Costa NL, Junqueira-Kipnis AP, et al. Differential infiltration of CD8+ and NK cells in lip and oral cavity squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med 2010; 39: 162.

Legendas das figuras

Fig. 1. A) Fotomicrografia do *front* de invasão de CCELI de baixo grau de malignidade (H/E, 100×). B) *Front* de invasão de CCELI de alto grau de malignidade exibindo pequenas ilhas tumorais com menos de 15 células (setas) (H/E, 100×). C) CCELI bem diferenciado, com numerosas pérolas de ceratina (H/E, 100×). D) CCELI pobremente diferenciado exibindo intenso pleomorfismo celular (H/E, 400×). E) Detalhe de um nódulo linfóide (seta) em CCELI de risco intermediário (H/E, 100×). F) CCELI de alto risco, com pior padrão de invasão tipo 4 e infiltrado linfocítico tipo 3 (H/E, 100×). G) Invasão perineural (setas) em fascículo nervoso com mais de 1 mm de diâmetro em CCELI de alto risco (H/E, 100×). H) CCELI de baixo risco, com pior padrão de invasão tipo 3 e infiltrado linfocítico tipo 1 (H/E, 100×).

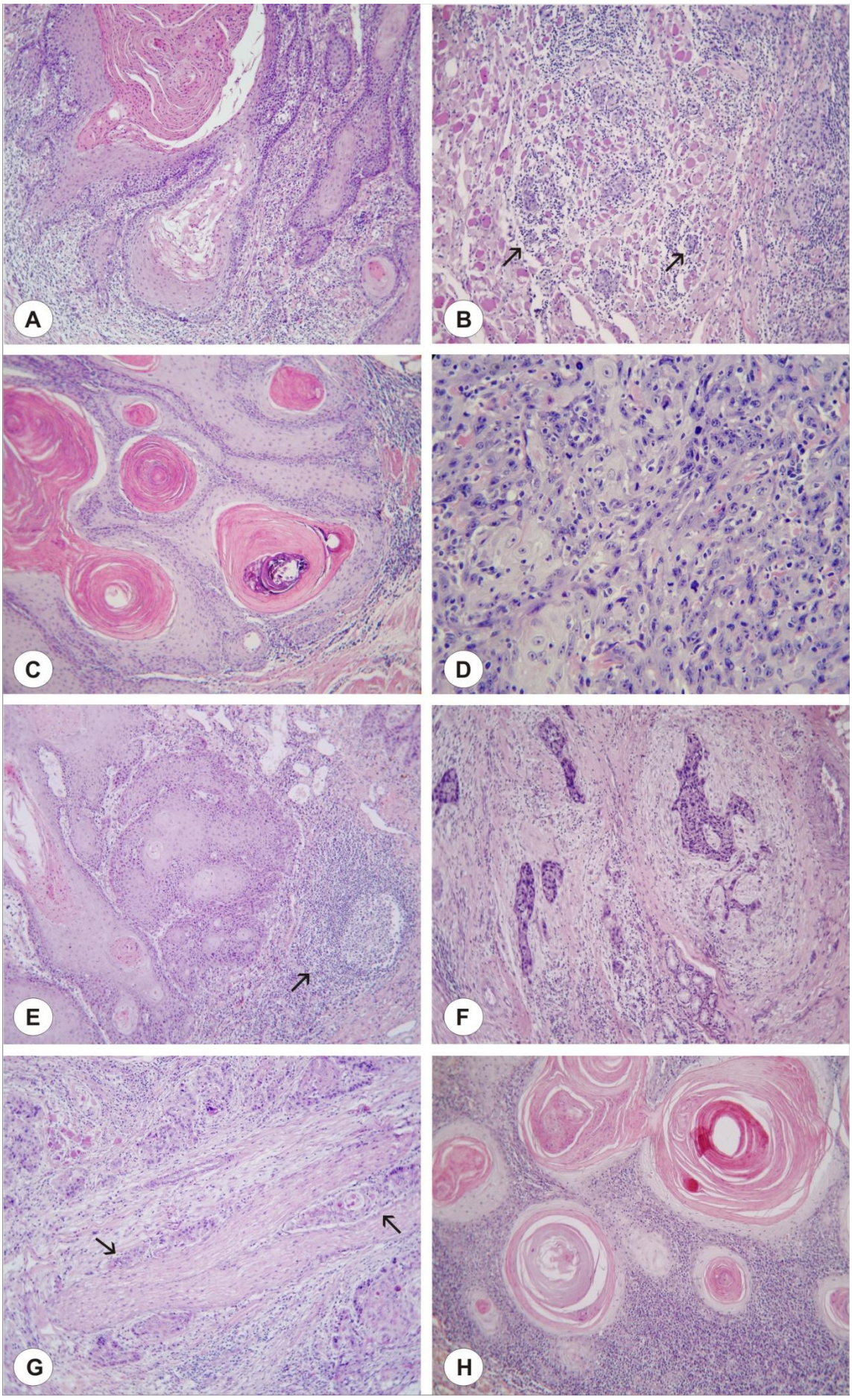
A
B
C
D
E
F
G
H

Tabela 1. Aspectos morfológicos avaliados no SGHM proposto por Bryne et al.[17] e seus respectivos escores.

Aspectos morfológicos	**Escore**
Grau de ceratinização	
Altamente ceratinizado (> 50% das células)	1
Moderadamente ceratinizado (20 – 50% das células)	2
Ceratinização mínima (5 – 20% das células)	3
Sem ceratinização (0 – 5% das células)	4
Pleomorfismo nuclear	
Pouco pleomorfismo (> 75% das células maduras)	1
Pleomorfismo moderadamente abundante (50 – 75% das células maduras)	2
Pleomorfismo abundante (25 – 50% das células maduras)	3
Pleomorfismo extremo (0 – 25% das células maduras)	4
Padrão de invasão	
Bordas infiltrativas bem delimitadas	1
Cordões, bandas e/ou trabéculas sólidas infiltrativas	2
Pequenos grupos ou cordões de células infiltrativas (n > 15)	3
Infiltração difusa e pronunciada, em pequenos grupos celulares e/ou célula individuais (n < 15)	4
Infiltrado inflamatório	
Intenso	1
Moderado	2
Escasso	3
Ausente	4

Tabela 2. Aspectos morfológicos avaliados no SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al.[24] e seus respectivos escores.

Aspectos morfológicos	**Definição**	**Escore**
Pior padrão de invasão		
Tipo 1	Compressivo, com bordas infiltrativas bem delimitadas	0
Tipo 2	Bandas infiltrativas ou grandes ilhas separadas, com aspecto estrelado	0
Tipo 3	Grandes ilhas separadas (mais de 15 células por ilha)	0
Tipo 4	Pequenas ilhas (menos de 15 células por ilha)	+1
Tipo 5	Satélites tumorais com pelo menos 1 mm de distância em relação à massa tumoral principal ou ao satélite tumoral mais próximo	+3
Infiltrado linfocítico		
Tipo 1	Banda contínua de infiltrado linfocítico denso (nódulos linfóides em todos os campos microscópicos, em aumento de 4×)	0
Tipo 2	Placas descontínuas de infiltrado linfocítico (nódulos linfóides em alguns campos, em aumento de 4×)	+1
Tipo 3	Pouco ou nenhum infiltrado linfocítico (nenhum nódulo linfóide)	+3
Invasão perineural		
Ausente	Sem invasão	0
Pequenos nervos	Invasão de nervos com diâmetro < 1mm	+1
Grandes nervos	Invasão de nervos com diâmetro ≥ 1mm	+3

Tabela 3. Distribuição absoluta e relativa dos casos de carcinoma de células escamosas de lábio inferior de acordo com os parâmetros clínico-patológicos.

Parâmetros clínico-patológicos	n (%)
Sexo	
Masculino	45 (76,3)
Feminino	14 (23,7)
Tumor	
T1	19 (32,2)
T2	32 (54,2)
T3	5 (8,5)
T4	3 (5,1)
Nodo	
N0	36 (61,0)
N1	20 (33,9)
N2	3 (5,1)
N3	0 (0,0)
Metástase	
M0	58 (98,3)
M1	1 (1,7)
Estádio clínico	
Estádio I	15 (25,4)
Estádio II	19 (32,2)
Estádio III	19 (32,2)
Estádio IV	6 (10,2)
Gradação Bryne et al.[17]	
Baixo grau	23 (39,0)
Alto grau	36 (61,0)
Gradação OMS[18]	
Bem diferenciado	19 (32,2)
Moderadamente diferenciado	25 (42,4)
Pobremente diferenciado	15 (25,4)
Gradação Brandwein-Gensler et al.[24]	
Baixo risco	17 (28,8)
Risco intermediário	24 (40,7)
Alto risco	18 (30,5)

Tabela 4. Distribuição absoluta e relativa dos casos de carcinoma de células escamosas de lábio inferior de acordo com as gradações histopatológicas de malignidade e os parâmetros clínicos.

Gradações histopatológicas	Tamanho do tumor			*p*	Metástase regional			*p*	Estádio clínico			*p*
	T1	**T2–T4**	**Total**		**N0**	**N1–N2**	**Total**		**I–II**	**III–IV**	**Total**	
	n (%)	**n (%)**	**n (%)**		**n (%)**	**n (%)**	**n (%)**		**n (%)**	**n (%)**	**n (%)**	
Bryne et al. [17]												
BG	11	12	23	**0,040***	18	5	23	**0,030***	17	6	23	**0,043***
	(47,8)	(52,2)	(100,0)		(78,3)	(21,7)	(100,0)		(73,9)	(26,1)	(100,0)	
AG	8	28	36		18	18	36		17	19	36	
	(22,2)	(77,8)	(100,0)		(50,0)	(50,0)	(100,0)		(47,2)	(52,8)	(100,0)	
OMS[18]												
BD	9	10	19	0,086*	13	6	19	0,422*	12	7	19	0,554*
	(47,4)	(52,6)	(100,0)		(68,4)	(31,6)	(100,0)		(63,2)	(36,8)	(100,0)	
MD/ PD	10	30	40		23	17	40		22	18	40	
	(15,0)	(75,0)	(100,0)		(57,5)	(42,5)	(100,0)		(55,0)	(45,0)	(100,0)	
Brandwein-Gensler et al. [24]												
BR/ RI	15	26	41	0,370**	30	11	41	**0,004***	29	12	41	**0,002***
	(36,6)	(63,4)	(100,0)		(73,2)	(26,8)	(100,0)		(70,7)	(29,3)	(100,0)	
AR	4	14	18		6	12	18		5	13	18	
	(22,2)	(77,8)	(100,0)		(33,3)	(66,7)	(100,0)		(27,8)	(72,2)	(100,0)	

Legenda: BG – Baixo grau; AG – Alto grau; BD – Bem diferenciado; MD – Moderadamente diferenciado; PD – Pobremente diferenciado; BR – Baixo risco; RI – Risco intermediário; AR – Alto risco.

*Teste do Qui-quadrado **Teste exato de Fisher

Tabela 5. Distribuição absoluta e relativa dos casos de carcinoma de células escamosas de lábio inferior de acordo com os aspectos morfológicos avaliados no SGHM proposto por Bryne et al.[17] e os parâmetros clínicos.

Aspectos morfológicos	Tamanho do tumor			*p*	Metástase regional			*p*	Estádio clínico			*p*
	T1 n (%)	T2–T4 n (%)	Total n (%)		N0 n (%)	N1–N2 n (%)	Total n (%)		I–II n (%)	III–IV n (%)	Total n (%)	
Grau de ceratinização												
Escore 1 – 2	11	15	26	0,140*	15	11	26	0,642*	14	12	26	0,602*
	(42,3)	(57,7)	(100,0)		(57,7)	(42,3)	(100,0)		(53,8)	(46,2)	(100,0)	
Escore 3 – 4	8	25	33		21	12	33		20	13	33	
	(24,2)	(75,8)	(100,0)		(63,6)	(36,4)	(100,0)		(60,6)	(39,4)	(100,0)	
Padrão de invasão												
Escore 1 – 2	10	16	26	0,361*	19	7	26	0,092*	18	8	26	0,109*
	(38,5)	(61,5)	(100,0)		(73,1)	(26,9)	(100,0)		(69,2)	(30,8)	(100,0)	
Escore 3 – 4	9	24	33		17	16	33		16	17	33	
	(27,3)	(72,7)	(100,0)		(51,5)	(48,5)	(100,0)		(48,5)	(51,5)	(100,0)	
Pleomorfismo nuclear												
Escore 1 – 2	13	23	36	0,422*	25	11	36	0,097*	24	12	36	0,079*
	(36,1)	(63,9)	(100,0)		(69,4)	(30,6)	(100,0)		(66,7)	(33,3)	(100,0)	
Escore 3 – 4	6	17	23		11	12	23		10	13	23	
	(26,1)	(73,9)	(100,0)		(47,8)	(52,2)	(100,0)		(43,5)	(56,5)	(100,o)	
Infiltrado inflamatório												
Escore 1 – 2	18	39	57	0,544**	35	22	57	1,000**	33	24	57	1,000**
	(31,6)	(68,4)	(100,0)		(61,4)	(38,6)	(100,0)		(57,9)	(42,1)	(100,0)	
Escore 3 – 4	1	1	2		1	1	2		1	1	2	
	(50,0)	(50,0)	(100,0)		(50,0)	(50,0)	(100,0)		(50,0)	(50,0)	(100,0)	

*Teste do Qui-quadrado **Teste exato de Fisher

Tabela 6. Distribuição absoluta e relativa dos casos de carcinoma de células escamosas de lábio inferior de acordo com os aspectos morfológicos avaliados no SGHM proposto por Brandwein-Gensler et al.[24] e os parâmetros clínicos.

Aspectos morfológicos	Tamanho do tumor			*p*	Metástase regional			*p*	Estádio clínico			*p*
	T1	**T2–T4**	**Total**		**N0**	**N1–N2**	**Total**		**I–II**	**III–IV**	**Total**	
	n (%)	**n (%)**	**n (%)**		**n (%)**	**n (%)**	**n (%)**		**n (%)**	**n (%)**	**n (%)**	
Pior padrão de invasão												
Tipo 1 – 3	9	22	31	0,583*	19	12	31	0,964*	18	13	31	0,943*
	(29,0)	(71,0)	(100,0)		(61,3)	(38,7)	(100,0)		(58,1)	(41,9)	(100,0)	
Tipo 4 – 5	10	18	28		17	11	28		16	12	28	
	(35,7)	(64,3)	(100,0)		(60,7)	(39,3)	(100,0)		(57,1)	(42,9)	(100,0)	
Infiltrado linfocítico												
Tipo 1 – 2	16	32	48	1,000**	33	15	48	**0,017****	31	17	48	**0,040****
	(33,3)	(66,7)	(100,0)		(68,8)	(31,3)	(100,0)		(64,6)	(35,4)	(100,0)	
Tipo 3	3	8	11		3	8	11		3	8	11	
	(27,3)	(72,7)	(100,0)		(27,3)	(72,7)	(100,0)		(27,3)	(72,7)	(100,0)	
Invasão perineural												
Ausente	13	26	39	0,795*	25	14	39	0,497*	24	15	39	0,396*
	(33,3)	(66,7)	(100,0)		(64,1)	(35,9)	(100,0)		(61,5)	(38,5)	(100,0)	
Presente	6	14	20		11	9	20		10	10	20	
	(30,0)	(70,0)	(100,0)		(55,0)	(45,0)	(100,0)		(50,0)	(50,0)	(100,0)	

*Teste do Qui-quadrado **Teste exato de Fisher

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sistema TNM tem sido utilizado como padrão internacional para auxiliar na determinação dos protocolos terapêuticos para as neoplasias malignas e estimar a sobrevida dos pacientes. Entretanto, este sistema de estadiamento nem sempre é capaz de estabelecer o desfecho clínico para os pacientes com CCEO. Desta forma, numerosos estudos têm sido realizados com o intuito de identificar outros fatores capazes de suplementar o sistema TNM na determinação do prognóstico para os pacientes com CCEO e CCELI. Neste contexto, historicamente, os SGHM assumem posição de destaque.

Desde o estudo pioneiro, realizado por Broders (1920), vários SGHM foram propostos para o CCEO. Apesar disto, pesquisas a respeito do potencial prognóstico destes sistemas para os pacientes com CCEO têm apresentado resultados conflitantes. Assim, a utilização dos SGHM como indicadores de comportamento biológico destas neoplasias malignas permanece um assunto controverso. Em meio a esta discussão, investigações recentes destacam o potencial do modelo histopatológico de análise de risco, proposto por Brandwein-Gensler et al. (2005), para indicar a presença de metástase linfonodal e atuar como fator preditivo para a recorrência local e sobrevida geral dos pacientes com CCEO.

Apesar da ausência de estudos sobre a possível utilidade do SGHM desenvolvido por Brandwein-Gensler et al. (2005) na determinação do prognóstico para pacientes com CCELI, os achados da presente pesquisa sugerem que o modelo histopatológico de análise de risco pode constituir o melhor sistema para indicar o comportamento biológico nestes tumores. Estas observações, em conjunto com os resultados provenientes de estudos com CCEO, alicerçam a realização de novas investigações para avaliar o potencial do sistema proposto por Brandwein-Gensler et al. (2005) como fator preditivo para a recorrência local e a sobrevida geral de pacientes com CCELI.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ANNEROTH, G.; BATSAKIS, J.G.; LUNA, M. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 95, n. 3, p. 229-249, 1987.

ANNEROTH, G.; HANSEN, L.S. A methodologic study of histologic classification and grading of malignancy in oral squamous cell carcinoma. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 92, n. 5, p. 448-468, 1984.

ARTHUR, K.; FENNER, M.L. The influence of histologic grading on prognosis on carcinoma of tongue (a computer analysis of 249 cases). **Clin. Radiol.**, v. 17, n. 4, p. 384-96, 1966.

BATISTA, A.C. et al. Distinctive clinical and microscopic features of squamous cell carcinoma of oral cavity and lip. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 109, n. 3, p. e74-e79, 2010.

BILKAY, U. et al. Management of lower lip cancer: a retrospective analysis of 118 patients and review of the literature. **Ann. Plast. Surg.**, v. 50, n. 1, p. 43-50, 2003.

BRANDWEIN-GENSLER, M. et al. Oral squamous cell carcinoma: histologic risk assessment, but not margin status, is strongly predictive of local disease-free and overall survival. **Am. J. Surg. Pathol.,** v. 29, n. 2, p. 167-178, 2005.

BRANDWEIN-GENSLER, M. et al. Validation of the histologic risk model in a new cohort of patients with head and neck squamous cell carcinoma. **Am. J. Surg. Pathol.**, v. 34, n. 5, p. 676-688, 2010.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo Patologia**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1501p. 2011.

BRODERS, A.C. Squamous-cell epithelioma of the lip: a study of five hundred and thirty-seven cases. **JAMA**, v. 74, n. 10, p. 656-664, 1920.

BRYNE, M. Is the invasive front of an oral carcinoma the most important area for prognostication? **Oral Dis.**, v. 4, n. 2, p. 70-77, 1998.

BRYNE, M. et al. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. **J. Pathol.**, v. 166, n. 4, p. 375-381, 1992.

BRYNE, M. et al. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broders' grading in oral squamous cell carcinomas. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 18, n. 8, p. 432-437; 1989.

CAMISASCA, D.R. et al. Oral squamous cell carcinoma: clinicopathological features in patients with and without recurrence. **ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.**, v. 73, n. 3, p. 170-176, 2011.

CARDESA, A. et al. Squamous cell carcinoma. *In*: BARNES, L. et al. **World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of head and neck tumors**. Lyon: IARC Press, 2005, p.118-121.

CLARK, J.R. et al. Established prognostic variables in N0 oral carcinoma. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 135, n. 5, p. 748-753, 2006.

COSTA, A.L.L; ARAÚJO JÚNIOR, R.F.; RAMOS, C.C.F. Correlation between TNM classification and malignancy histological feature of oral squamous cell carcinoma. **Braz. J. Otorhinolaryngol.**, v. 71, n. 2, p. 181-187, 2005.

CZERNINSKI, R.; ZINI, A.; SGAN-COHEN, H.D. Lip cancer: incidence, trends, histology and survival: 1970 – 2006. **Br. J. Dermatol.**, v. 162, n. 5, p. 1103-1109, 2010.

DE VISSCHER, J.G. et al. Surgical treatment of squamous cell carcinoma of the lower lip: evaluation of long-term results and prognostic factors – a retrospective analysis of 184 patients. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 56, n. 7, p. 814-820, 1998.

GUTIÉRREZ-PASCUAL, M. et al. Squamous cell carcinoma of the lip: a retrospective study of 146 patients. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, v. 26, n. 9, p. 1116-1121, 2012.

HASSON, O. Squamous cell carcinoma of the lower lip. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 66, n. 6, p. 1259-1262, 2008.

HÖGMO, A. et al. Predictive value of malignancy grading systems, DNA content, p53, and angiogenesis for stage I tongue carcinomas. **J. Clin. Pathol.**, v. 52, n. 1, p. 35-40, 1999.

JOHNSON, N. et al. Squamous cell carcinoma. In: BARNES, L. et al. **World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of head and neck tumors**. Lyon: IARC Press, 2005, p. 168-175.

KORNEVS, E. et al. 5 year experience with lower lip cancer. **Stomatologija**, v. 7, n. 3, p. 95-98, 2005.

KRISHNAMURTHI, S.; SHANTA, V.; SASTRI, D.V.L.N. Combined therapy in buccal mucosal cancers. **Radiology**, v. 99, n. 2, p. 909-15, 1971.

KUMAR, V. et al. **Robbins & Cotran – Bases Patológicas das Doenças**. 8 ed. São Paulo: Elsevier, 2010. 1480p.

KUROKAWA, H. et al. The high prognostic value of the histologic grade at the deep invasive front of tongue squamous cell carcinoma. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 34, n. 6, p. 329-333, 2005.

LINDENBLATT, R.C. et al. Oral squamous cell carcinoma grading systems – analysis of the best survival predictor. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 41, n. 1, p. 34-39, 2012.

LOURENÇO, S.Q.C. et al. Classificações histopatológicas para o carcinoma de células escamosas da cavidade oral: revisão de sistemas propostos. **Rev. Bras. Cancerol**., v. 53, n. 3, p. 325-333, 2007.

LUND, C. et al. Epidermoid carcinoma of the tongue: histologic grading in the clinical evaluation. **Acta Radiol. Ther. Phys. Biol.**, v. 14, n. 6, p. 513-521, 1975.

MAROCCHIO, L.S. et al. Oral squamous cell carcinoma: an analysis of 1,564 cases showing advances in early detection. **J. Oral Sci.**, v. 52, n. 2, p. 267-273, 2010.

MATOS, F.R. et al. Analysis of inflammatory infiltrate, perineural invasion, and risk score can indicate concurrent metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 70, n. 7, p. 1703-1710, 2012.

MORSELLI, P. et al. Clinical parameters in T1N0M0 lower lip squamous cell carcinoma**. J. Craniofac. Surg.**, v. 18, n. 5, p. 1079-82, 2007.

PIFFKÒ, J. et al. Prognostic value of histobiological factors (malignancy grading and AgNOR content) assessed at the invasive tumour front of oral squamous cell carcinomas. **Br. J. Cancer**, v. 75, n. 10, p. 1543-1546, 1997.

QUAEDVLIEG, P.J. et al. Histopathological characteristics of metastasizing squamous cell carcinoma of the skin and lips. **Histopathology**, v.49, n.3, p. 256-264, 2006.

SALGARELLI, A.C. et al. Surgical treatment of lip cancer: our experience with 106 cases. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 67, n. 4, p. 840-845, 2009.

SARGERAN, K. et al. Survival after lip cancer diagnosis. **J. Craniofac. Surg.**, v. 20, n. 1, p. 248-252, 2009.

SAWAIR, F.A. et al. Invasive front grading: reliability and usefulness in the management of oral squamous cell carcinoma. **J. Oral Pathol. Med.**, v.32, n. 1, p.1-9, 2003.

SILVEIRA, E.J. et al. Correlation of clinical, histological, and cytokeratin profiles of the squamous cell carcinoma of the oral tongue with prognosis. **Int. J. Surg. Pathol.**, v. 15, n. 4, p. 376-383, 2007.

SILVEIRA, E.J. et al. Analysis of local immunity in squamous cell carcinoma of the tongue and lower lip. **Exp. Mol. Pathol.**, v. 88, n. 1, p. 171-175, 2010.

SOBIN, L.H.; WITTEKIND, C. **TNM classification of malignant tumors**. 6th ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2002. 264p.

SOUZA, R.L. et al. Lip squamous cell carcinoma in a Brazilian population: epidemiological study and clinicopathological associations. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.**, v. 16, n. 6, p. e757-e762, 2011.

VERED, M. et al. Oral tongue squamous cell carcinoma: recurrent disease is associated with histopathologic risk score and young age. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 136, n. 7, p. 1039-1048, 2010.

VUKADINOVIC, M. et al. Surgical management of squamous cell carcinoma of the lip: analysis of a 10-year experience in 223 patients. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 65, n. 4, p. 675-690, 2007.

WAHI, P.M. **Tipos histológicos de tumors orales y orofaringeos**. Giebra: Organizacion Mundial de la Salud, 1971.

WEIJERS, M. et al. Malignancy grading is no better that conventional histopathological grading in small squamous cell carcinoma of tongue and floor of mouth: retrospective study in 128 patients. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 38, n. 4, p. 343-347, 2009.

WITTEKIND, C. et al. TNM residual tumor classification revisited. **Cancer**, v. 94, n. 9, p. 2511-2516, 2002.

WOOLGAR, J.A. Histopathological prognosticators in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. **Oral Oncol.**, v. 42, n. 3, p. 229-239, 2006.

ZANCOPE, E. et al. Differential infiltration of CD8+ and NK cells in lip and oral cavity squamous cell carcinoma. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 39, n. 2, p.162-167, 2010.

ZINI, A.; CZERNINSKI, R.; SGAN-COHEN, HD. Oral cancer over four decades: epidemiology, trends, histology, and survival by anatomical sites. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 39, n. 4, p. 299-305, 2010.

ZITSCH, R.P.; LEE, B.W.; SMITH, R.B. Cervical lymph node metastases and squamous cell carcinoma of the lip. **Head Neck**, v. 21, n. 5, p. 447-453, 1999.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Ficha para coleta de dados clínicos relacionados aos casos de carcinoma de células escamosas de lábio inferior.

Caso	Nº de registro	Paciente		Sistema TNM			
		Sexo	Idade	Tumor	Nodo	Metástase	Estádio clínico

APÊNDICE B – Ficha para coleta de dados referentes às análises das gradações histopatológicas de malignidade dos carcinomas de células escamosas de lábio inferior.

Caso	SGHM da OMS (CARDESA *et al.*, 2005)	SGHM de Bryne *et al.* (1992)					SGHM de Brandwein-Gensler et al. (2005)			
		Grau de ceratinização	Padrão de invasão	Pleomorfismo nuclear	Infiltrado inflamatório	Escore total	Pior padrão de invasão	Infiltrado linfocítico	Invasão perineural	Escore de risco

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UEPB.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA - UEPB / PRÓ-REITORIA DE PÓS-

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: SISTEMAS DE GRADAÇÃO HISTOLÓGICA DE MALIGNIDADE E SUA RELAÇÃO COM PARÂMETROS CLÍNICOS EM CARCINOMAS DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LÁBIO INFERIOR

Pesquisador: Cassiano Francisco Weege Nonaka

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 07251812.8.0000.5187

Instituição Proponente: Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 180.328

Data da Relatoria: 21/12/2012

Apresentação do Projeto:

O projeto está completo, apresentando o modelo exigido e com a documentação necessária em anexo

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o grau histológico de malignidade em uma serie de casos de carcinomas de células escamosas de lábio inferior por meio de SGHM proposto por Bryne (1998).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Em se tratando de uma pesquisa que realizará a coleta de dados em fichas clínicas e utilizará lâminas histológicas e espécimes biológicos mantidos

em arquivo, os riscos potenciais implicados na participação nesta pesquisa não estão ao alcance de percepções. Portanto, não há riscos previsíveis.

Benefícios:

Ao permitir que os dados clínicos e histopatológicos e o material biológico das lesões sejam incluídos na pesquisa, os participantes contribuirão para

a identificação de possíveis indicadores de agressividade tumoral e de prognóstico em carcinomas de células escamosas de lábio inferior.

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário
Bairro: Bodocongó **CEP:** 58.109-753
UF: PB **Município:** CAMPINA GRANDE
Telefone: (83)3315-3373 **Fax:** (83)3315-3373 **E-mail:** cep@uepb.edu.br

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

É viável e de grande importância para a qualidade de vida da população.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Toda a documentação necessária está anexada..

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O projeto atende as exigências protocolares deste CEP, mediante a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

CAMPINA GRANDE, 21 de Dezembro de 2012

Assinador por:
Doralúcia Pedrosa de Araújo
(Coordenador)

Endereço: Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário
Bairro: Bodocongó **CEP:** 58.109-753
UF: PB **Município:** CAMPINA GRANDE
Telefone: (83)3315-3373 **Fax:** (83)3315-3373 **E-mail:** cep@uepb.edu.br

ANEXO B – Normas para submissão de trabalhos para o periódico *Journal of Cutaneous Pathology*.

Journal of Cutaneous Pathology

Edited By: Timothy H. McCalmont
Impact Factor: 1.561
ISI Journal Citation Reports © Ranking: 2011: 28/58 (Dermatology); 48/79 (Pathology)
Online ISSN: 1600-0560

Author Guidelines

Electronic Submission of Manuscripts
Manuscripts should be submitted via http://mc.manuscriptcentral.com/jcp.
Electronic manuscripts should be submitted as a rich text document (RTF format), and the figures submitted as JPEG, GIF, TIF or EPS file. Full instructions for electronic submission are given at the above website. Authors submitting a paper do so on the understanding that the work has not been published before, is not being considered for publication elsewhere and has been read and approved by all authors.

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

Copyright
All accepted manuscripts must be accompanied by a completed Copyright Transfer Agreement. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by the exclusive license, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes or in electronic databases and the like or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher.

Copyright Transfer Agreement
Authors will be required to sign a Copyright Transfer Agreement (CTA) for all papers accepted for publication. Signature of the CTA is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless a signed form has been received. (Government employees need to complete the Author Warranty sections, although copyright in such cases does not need to be assigned). After submission authors will retain the right to publish their paper in various medium/circumstances (please see the form for further details). To assist authors, the Editorial Office will supply an appropriate form. Alternatively, authors may like to download a copy of the form from www.wiley.com/go/ctaaglobal. Authors are to be reminded to tick one of the boxes found on page 2 of the CTA form.

Accepted Articles
'Accepted Articles' have been accepted for publication and undergone full peer review but have not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process. Accepted Articles are published online a few days after final acceptance, appear in PDF format only, are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked, and are indexed by PubMed. A completed copyright form is required before a manuscript can be processed as an Accepted Article.

OnlineOpen
OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at: https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

Author material archive policy
Please note that unless specifically requested, Wiley-Blackwell will dispose of all hardcopy or electronic material submitted 2 months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible if you have not yet done so.
Papers should be divided into the following sections:

- Title page with a running title (not to exceed 40 characters), with author's names, affiliations, and address and telephone and FAX numbers of the corresponding author,
- 5 Keywords
- Abstract - (not exceeding 200 words); Original Article abstracts should be divided into sections entitled: Background, Methods, Results, and Conclusions.
- Introduction,
- Material and methods,
- Results,
- Discussion,
- Acknowledgements - (if any), and
- References

References
References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables and legends by Arabic numerals (in parentheses). All authors cited, and only these, must be listed at the end of the paper**.**

Examples:

(1) *Standard journal article*

(List all authors when 6 or less; when 7 or more, list only the first 3 and add et al.)

Dockwell H, Greenspan JS. Histochemical identification of T-cells in oral lichen planus. Oral Surg 1979; 42: 227.

Thomas Y, Sosman J, Irigoyen P, et al. Functional analysis of human T-cell subsets defined by monoclonal antibodies. I. Collaborative T-T interactions in the immunoregulation of B-cell differentiation. J Immunol 1980; 125: 2402.

(2) *Corporate author*

The Royal Marsden Hospital Bone-Marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. Lancet 1977; 2: 242.

(3) *No author given*

Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas [Editorial]. Br Med J 1981; 283: 25.

(4) *Journal supplement*

Mastri AR. Neuropathy of diabetic neurogenic bladder. Ann Intern Med 1980; 92(2 Pt 2): 316.

Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan [Abstract]. Blood 1979; 54(suppl 1): 26a.

(5) *Journal paginated by issue*

Seaman WB. The case of the pancreatic pseudocyst. Hosp Pract 1981; 16(Sep): 24.

(6) *Personal author(s)*

Eisen HN. Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of the immune response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974; 406.

(7) *Editor, compiler, chairman as author*

Dausset J, Colombani J, eds. Histocompatibility testing 1972. Copenhagen: Munksgaard, 1973; 12.

(8) *Chapter in a book*

Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: W B Saunders, 1974; 457.

(9) *Published proceedings paper*

DuPont B. Bone marrow transplantation in severe combined immunodeficiency with an unrelated MLC compatible donor. In: White HJ, Smith R, eds. Proceedings of the third annual meeting of the International Society for Experimental Hematology. Houston: International Society for Experimental Hematology, 1974; 44.

(10) *Agency publication*

Ranofsky AL. Surgical operations in short-stay hospitals: United States-1975. Hyattsville, Maryland: National Centre for Health Statistics, 1978; DHEW publication no. (PHS)78-1785. (Vital and health statistics; series 13; no 34).

(11) *Dissertation or thesis*
Cairns RB. Infrared spectroscopic studies of solid oxygen. Berkeley, California: University of California, 1965. 156 pp. Dissertation.

References in Articles
We recommend the use of a tool such as Reference Manager (http://www.refman.com/) for reference management and formatting.
Reference Manager reference styles can be searched for here:
http://www.refman.com/support/rmstyles.asp

Illustrations
Printed illustrations must not exceed the Journal page dimension of 16.7 x 23 cm. Single-column figures must not exceed 8 x 23 cm. Illustrations must be submitted as glossy black and white prints showing good detail. Conversion of good quality transparencies to large format black and white negatives can produce excellent black and white reproduction of clinical illustrations. Color should *not* ordinarily be used to document routine hematoxylin-eosin sections. Photographs to appear in a block should be submitted mounted. Micrographs should be planned so that they can be reproduced without reduction. Any lines, numbers or lettering should be in black India ink. Text on the figures should be in capitals. Graphs can be plotted on plain white or blue squared paper; grid lines that are to show should be inked in black. *Color illustrations:* Color illustrations will be accepted free of charge for all papers. If submitting artwork electronically, please read the information on the Wiley-Blackwell's website at: http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp

Offprints
Offprints can be supplied if ordered on the offprint order form accompanying the proofs.

Author Services
Online production tracking is now available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production so they don't need to contact the production editor to check on progress. Visit http://authorservices.wiley.com/bauthor/ for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Free access to the final PDF offprint of your article will be available via author services only. Please therefore sign up for author services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers.