



FACULTADE DE MEDICINA  
E ODONTOLOXÍA

Trabajo de  
fin de grado

**La dimensión fractal como herramienta para predecir la malignización de las leucoplasias orales**

**A dimensión fractal como ferramenta para predicir a malignización das leucoplasias orais**

**Fractal dimension for predicting oral leukoplakias malignization**

**Autora:** Alba Sánchez Barco

**Tutor:** Mario Pérez-Sayáns García

**Cotutora:** Cintia Micaela Chamorro Petronacci

**Departamento:** Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas

Junio 2022

Trabajo de Fin de Grado presentado en la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela para la obtención del Grado en Odontología

## Resumen

*Antecedentes:* La leucoplasia oral (LO) es un trastorno oral potencialmente maligno (TOPM) que se asocia con un riesgo incrementado de desarrollar cáncer. Actualmente, el *gold standard* para la valoración de los TOPMs es la biopsia, que se emplea principalmente para detectar la presencia de displasia. El análisis de la dimensión fractal (DF) se presenta como una herramienta no invasiva para el estudio de lesiones leucoplásicas cuyo valor podría relacionarse con factores indicadores de la progresión de la lesión.

*Objetivos y métodos:* Se han utilizado 89 fotografías de LO y leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP) de pacientes tratados en la Unidad de Medicina Oral de la Universidad de Santiago de Compostela entre los años 2008 y 2021. Luego se emplearon los programas Qupath e ImageJ para calcular la DF y estudiar si puede convertirse en una herramienta objetiva para pronosticar la malignización de dichas lesiones.

*Resultados:* Los resultados obtenidos muestran diferencias estadísticamente significativas entre lesiones con y sin displasia ( $p=0'016$ ). La media de DF fue superior en lesiones sin displasia que en aquellas que sí la presentaban ( $1'870 \pm 0'058$  y  $1'832 \pm 0'084$ , respectivamente). La DF se presenta en este estudio como una herramienta de escasa capacidad diagnóstica (37'9% de sensibilidad y 25% de especificidad).

*Conclusión:* La DF podría llegar a ser una valiosa herramienta para el diagnóstico precoz. Aunque no sustituya a la biopsia, puede constituir una prueba complementaria económica, versátil e inocua para el paciente.

*Palabras clave:* leucoplasia oral, dimensión fractal, malignización, displasia.

## Resumo

*Antecedentes:* A leucoplasia oral (LO) é un trastorno oral potencialmente maligno (TOPM) que se asocia cun risco incrementado de desenvolver un cancro. Actualmente, o *gold standard* para a valoración dos TOPMs é a biopsia, que se emprega principalmente para detectar a presenza de displasia. A análise da dimensión fractal (DF) preséntase como unha ferramenta non invasiva para o estudo de lesións leucoplásicas cuxo valor podería relacionarse con factores indicadores da progresión da lesión.

*Obxectivos e métodos:* Utilizáronse 89 fotografías de LO e leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP) de pacientes tratados na Unidade de Medicina Oral da Universidade de Santiago de Compostela entre os anos 2008 e 2021. Despois empregáronse os programas Qupath e ImageJ para calcular a DF e estudar se pode converterse nunha ferramenta obxectiva para prognosticar a malignización de ditas lesións.

*Resultados:* Os resultados obtidos mostran diferenzas estatisticamente significativas entre lesións con e sen displasia ( $p=0'016$ ). A media da DF foi superior en lesións sen displasia que en aquelas que si a presentaban ( $1'870 \pm 0'058$  e  $1'832 \pm 0'084$ , respectivamente). A DF preséntase neste estudo como unha ferramenta de escasa capacidade diagnóstica (37'9% de sensibilidade e 25% de especificidade).

*Conclusión:* A DF podería chegar a ser una valiosa ferramenta para o diagnóstico precoz. Aínda que non substitúa á biopsia, pode constituír unha proba complementaria económica, versátil e inocua para o paciente.

*Palabras clave:* leucoplasia oral, dimensión fractal, malignización, displasia.

## **Abstract**

*Background:* Oral leukoplakia (OL) is an oral potentially malignant disorder (OPMD) associated with an increased risk of developing cancer. Currently, the gold standard for the assessment of OPMDs is biopsy, which is mainly used to detect the presence of dysplasia. The analysis of fractal dimension (FD) is presented as a non-invasive tool for the study of leukoplastic lesions whose value could be related to indicators of the progression of the lesion.

*Aims and methods:* 89 photographs of OL and proliferative verrucous leukoplakia (PVL) of patients treated at the Oral Medicine Unit of the University of Santiago de Compostela between 2008 and 2021 were used. Qupath and Image J softwares were afterwards used to calculate the FD and to study whether it could become an objective tool for predicting the malignancy of these lesions.

*Results:* The results obtained show statistically significant differences between lesions with and without dysplasia ( $p=0.016$ ). The mean FD value was higher in lesions without dysplasia than in those with dysplasia ( $1.870 \pm 0.058$  and  $1.832 \pm 0.084$ , respectively). The DF is presented in this study as a tool with a low diagnostic capacity (37.9% sensitivity and 25% specificity).

*Conclusion:* The FD might become a valuable tool for early diagnosis. Although it does not replace biopsy, it can be an inexpensive, versatile and harmless complementary test for the patient.

*Key words:* oral leukoplakia, fractal dimension, malignization, dysplasia.

# Índice

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b>                  | <b>1</b>  |
| <b>2. OBJETIVOS</b>                     | <b>5</b>  |
| <b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b>            | <b>5</b>  |
| 3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO                 | 5         |
| 3.2. TAMAÑO MUESTRAL                    | 6         |
| 3.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN | 6         |
| 3.4. VARIABLES                          | 7         |
| 3.5. ANÁLISIS DE IMÁGENES               | 7         |
| 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO               | 8         |
| <b>4. RESULTADOS</b>                    | <b>9</b>  |
| <b>5. DISCUSIÓN</b>                     | <b>12</b> |
| <b>6. CONCLUSIONES</b>                  | <b>17</b> |
| <b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>                  | <b>18</b> |

## **La dimensión fractal como herramienta para predecir la malignización de las leucoplasias orales.**

### **1. Introducción**

Los trastornos orales potencialmente malignos (TOPM) incluyen un grupo variado de lesiones mucosas asociadas a un riesgo aumentado de transformación maligna hacia un carcinoma oral. Dentro de este grupo de lesiones, la leucoplasia oral (LO) se posiciona entre las halladas con mayor frecuencia durante la práctica clínica. (1)

La LO es un TOPM que fue definido en 2007 por la OMS como como una “placa predominantemente blanca de riesgo cuestionable habiendo excluido (otras) enfermedades o trastornos conocidos que no conllevan un mayor riesgo de cáncer”. (2) Conviene tener presente que la literatura habla de tasas de malignización de LO muy dispares (que van desde el 1'1 al 40'8%), pero existentes. (3) [Figura 1]

Siguiendo con este argumento, la presencia de un TOPM no implica necesariamente que el paciente vaya a desarrollar cáncer, pero sí es un factor que se ha relacionado con un riesgo incrementado de desarrollarlo. En definitiva, aunque la mayoría de estas lesiones no progresan a carcinoma, el seguimiento y detección temprana de cualquier transformación hacia la malignización resultan vitales, de modo que pueda ser posible realizar un diagnóstico precoz. (1)



**Figura 1.** Fotografías de dos pacientes con leucoplasia en dorso de lengua (izquierda) y en mucosa yugal (derecha)

Actualmente, el *gold standard* para analizar las lesiones orales y confirmar su diagnóstico es la biopsia, que se emplea principalmente para detectar la presencia de displasia (entendiendo por displasia la existencia de alteraciones morfológicas arquitecturales y celulares con respecto a la histología normal del epitelio).(4) A pesar de aportar datos histopatológicos relevantes, representa un método con ciertas limitaciones. Se trata de un procedimiento cruento e invasivo para el paciente y existe cierto componente subjetivo a la hora de interpretar los resultados (por la existencia de variabilidad inter observador entre patólogos). Asimismo, también existe la posibilidad de infravalorar la severidad de una lesión si se toma la muestra en una localización no displásica.

Existe una entidad, la leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP), que se ha definido como una forma diferenciada de la LO y que tiene la mayor tasa de desarrollo de cáncer oral comparado con otros TOPM. La LVP tiene una presentación multifocal y su curso clínico es progresivo, además de ser cambiante en sus cualidades clínicas e histopatológicas. (1)

Cerero-Lapiedra *et al.* (5) definieron los criterios mayores y menores para poder diagnosticar una lesión como LVP. De acuerdo con los criterios mayores, debe afectar como mínimo a dos localizaciones orales diferentes, debe producirse durante el seguimiento un crecimiento de la lesión y un desarrollo de áreas verrugosas, y además presenta una recurrencia muy elevada. Histológicamente puede existir desde una hiperqueratosis epitelial hasta una hiperplasia verrucosa, un carcinoma verrugoso o un carcinoma oral de células escamosas (COCE). [Figura 2]



**Figura 2.** Fotografías de un paciente diagnosticado de LVP.

Además de la clasificación clínica, cuando se identifica una lesión como LO o LVP debe indicarse la presencia o ausencia de displasia (así como el grado de esta, alto o bajo). Esto es importante debido a que se considera que la displasia epitelial es el mejor predictor de la futura transformación maligna en este tipo de lesiones. (2) Basándose en los criterios del 2005 de la OMS, que establecen un sistema binario para clasificar la displasia en bajo y alto grado, Kujan *et al.* (6) ratifican la utilidad de este método para mejorar el diagnóstico histopatológico de una displasia epitelial oral.

Un mayor grado de displasia se asocia con un riesgo incrementado de transformación maligna en comparación con una displasia de carácter más leve. (7) Por otro lado, determinadas características clínicas se asocian también con una mayor probabilidad de malignización, de forma que una LO no homogénea está asociada a un mayor riesgo de transformación frente a aquella que sí es homogénea. No es infrecuente que una LO no homogénea presente displasia severa o incluso COCE superficial o invasivo que puede ser evidenciado mediante biopsia. (1)

Frente a los métodos tradicionales, el análisis de la dimensión fractal (DF) se presenta como una herramienta no invasiva que permite llevar a cabo el estudio y seguimiento de lesiones leucoplásicas. (8,9) Su valor podría relacionarse con factores indicadores de la progresión de la lesión y este parámetro se vería por tanto modificado en función de la complejidad del patrón estudiado.

La palabra “fractal” deriva del latín “fractus”, que significa “fracturado” o “roto”. Los fractales son estructuras que se encuentran presentes en la naturaleza y en el cuerpo humano y que muestran autosemejanza que se repite a diferentes escalas. Este término significa que la imagen magnificada resulta indistinguible de la que no lo está, que la cantidad de detalles es constante y que cada componente tiene una forma similar a la del todo. (10) Así lo describió Helge von Koch en 1904 en el que se conoce como copo de nieve de Koch, donde cada porción triangular es una réplica del todo. (11)

Desde que fue introducida en 1983 por Mandelbrot (12) como un modelo matemático para describir estructuras biológicas geométricas complejas, se ha planteado la utilización del análisis de la DF en múltiples campos médicos. Esta es concebida como una herramienta útil y no invasiva para la caracterización de varias entidades y se ha

propuesto su utilidad para distinguir lesiones displásicas de aquellas que no lo son, lo cual sería presumiblemente aplicable a la LO.

De este modo, la DF representaría un medio a través del cual evaluar el grado de complejidad de estructuras anatómicas, concibiéndolas como objetos fractales y estudiando la variación en la intensidad de los píxeles de una imagen. Para ello, se procesa la información cargando datos en forma de imagen y se evalúa la complejidad de la misma a través de valores numéricos que se corresponden con la DF.

El valor de la DF puede ser empleado como un instrumento que se torna especialmente útil cuando las medidas euclidianas (como pueden ser el diámetro o la longitud) resultan descriptores insuficientes para caracterizar una imagen. Si bien es cierto que hablamos de lesiones que ocupan tres dimensiones en el espacio euclidiano o de estudios histológicos en dos dimensiones, nos referimos a entidades que no siguen una arquitectura geométrica euclidiana. Así, esta resulta una medición imprecisa que no llega hasta donde un enfoque basado en la geometría fractal sí podría hacerlo. (11)

Autores como Pandey *et al.* (13), quienes utilizan el análisis de la DF como método alternativo para el estudio del pronóstico de la LO, apuntan a que su valor se correlaciona con el estado de este TOPM. De este modo, obtiene diferencias significativas entre la DF en imágenes clínicas de las lesiones antes y después de haber sido tratadas, diferencias que relaciona con una menor complejidad o queratinización de la LO tras el tratamiento.

Con resultados en la misma línea, Reddy *et al.* (10) compararon los valores de la DF en casos de LO antes y después de ser tratados, revelando una disminución en su valor después de haber realizado el tratamiento y obteniendo diferencias estadísticamente significativas ( $1'032 \pm 0'1036$  vs.  $0'6516 \pm 0.1334$ , respectivamente;  $p=0'003$ ). Sus resultados sugieren una menor complejidad conforme se produce una regresión de las lesiones (tras el tratamiento) y que, por tanto, la DF es una herramienta útil en la predicción del pronóstico de una LO.

A través del cálculo de la DF en imágenes clínicas de lesiones de pacientes diagnosticados de LO, cuyo desenlace fue incluso en algunos casos la transformación a COCE, el objetivo de este trabajo es estudiar si la DF puede convertirse en una

herramienta objetiva que permita utilizar el análisis de la DF en imágenes clínicas. Se pretende valorar su utilización para el seguimiento de los pacientes con TOPM, de manera que permita discernir cambios sugestivos de realizar biopsias diagnósticas o incluso terapéuticas (escisionales en lesiones pequeñas). La hipótesis de partida es que el valor de la DF se incrementaría a medida que lo hacen, por ejemplo, la queratinización o la complejidad de la mucosa, lo cual sucede de forma paralela al progreso de la lesión.

Los estudios hasta la fecha requieren investigaciones adicionales, siendo una de las limitaciones existentes conseguir un mayor tamaño muestral para poder lograr resultados más significativos. Consolidar este método tendría un gran interés clínico, ya que actualmente existe un gap en el conocimiento de esta técnica y sus aplicaciones en el campo que nos atañe, de ahí la justificación de este trabajo. Hablamos de un procedimiento diagnóstico con evidentes beneficios, fácil de utilizar, económico y no invasivo.

## **2. Objetivos**

Los objetivos que se pretenden conseguir con este estudio son los siguientes:

- I) Describir los niveles de DF en imágenes clínicas de fotografías de lesiones de LO y de LVP.
- II) Estudiar la correlación entre los niveles de displasia y la DF de las fotografías.

## **3. Material y métodos**

### **3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

El presente trabajo consiste en un estudio retrospectivo realizado a partir de fotografías de pacientes diagnosticados de LO y LVP de los que se disponía tanto de material fotográfico como de informe de biopsia que confirmase el diagnóstico. Con este material, se realizó un análisis estadístico de los valores de las DF y se compararon los valores de una misma lesión en diferentes fechas y con diferentes diagnósticos

histopatológicos (incluyendo algunos casos de evolución a COCE), así como de localizaciones contralaterales sin lesión.

### **3.2. TAMAÑO MUESTRAL**

Inicialmente se partió de una base de datos compuesta por 37 pacientes. Tras la aplicación de los criterios de exclusión el número se redujo a 20, de los cuales se obtuvieron 89 muestras para su estudio.

### **3.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN**

Los criterios de inclusión fueron:

- I) Pacientes con evidencia clínica de LO o LVP de los que se disponía de al menos un informe de biopsia que corroborase el diagnóstico.
- II) Existencia de adecuados registros fotográficos de la lesión de interés, tanto en lo que se refiere a calidad de la imagen (por ejemplo, valorando la nitidez y que la perspectiva produjera una distorsión mínima de la lesión) como a la existencia de imágenes pertenecientes a diferentes fechas para cada paciente.
- III) Que se dispusiera de material fotográfico en la misma localización de la LO, pero en una zona contralateral, para ser usado como control.

Como criterios de exclusión se establecieron:

- I) Casos con ausencia de documentación fotográfica o de los que no se realizó un seguimiento en el tiempo.
- II) Pacientes cuyo diagnóstico de anatomía patológica se correspondía con otra entidad, como el liquen plano oral (LPO).
- III) Ausencia de informes de biopsia que permitiesen una confirmación histopatológica del diagnóstico de LO o LVP.

### 3.4. VARIABLES

Las variables clínicas y datos recogidos fueron: sexo (masculino/femenino), fecha de nacimiento, consumo de tabaco (sí/no/ex fumador), consumo de alcohol (sí/no) tipo de evolución (mucosa sana a no displasia/no displasia a displasia/displasia a cáncer/no displasia a cáncer), tipo de lesión (mucosa sana/sin displasia/displasia de bajo grado/displasia de alto grado/carcinoma), tipo de leucoplasia (homogénea/no homogénea/verrucosa proliferativa), localización (lengua/mucosa yugal/encía queratinizada/paladar blando), presencia de displasia (sí/no), sinergia con LPO (sí/no), tipo de manejo terapéutico (bisturí/láser/combinación de ambos /vaporización), malignización (sí/no) recurrencia de la lesión (sí/no/no se vaporizó), fecha de malignización, exitus (sí/no), fecha de exitus.

### 3.5. ANÁLISIS DE IMÁGENES

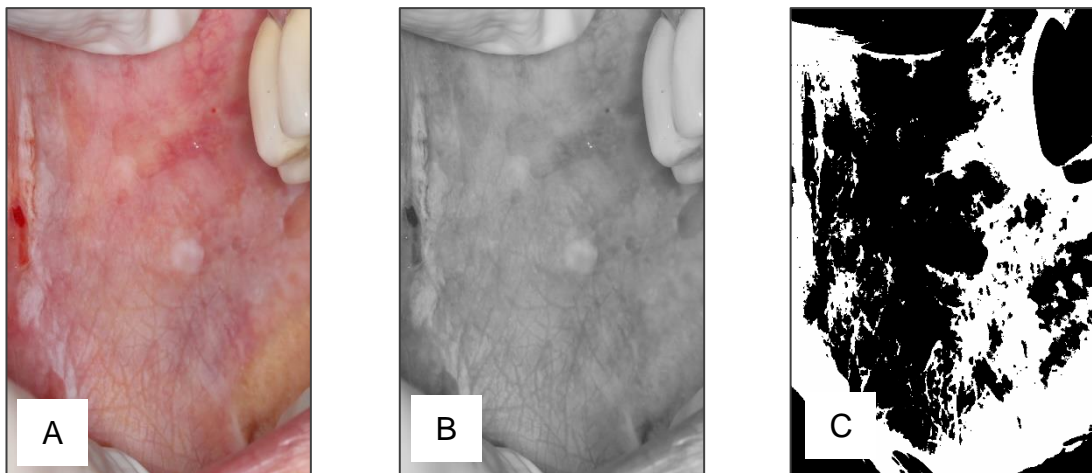
El cálculo de la DF se llevó a cabo mediante el programa QuPath (Quantitative Pathology & Bioimage Analysis. Centre for Cancer Research & Cell Biology at Queen's University Belfast), software de código abierto. Este contiene integrado ImageJ (National Institutes of Health), programa de procesamiento de imágenes digitales a través del cual se pueden obtener parámetros morfométricos.

Primero se delimitaron las regiones de interés, tanto de las zonas de lesión como de los controles. En el caso de las LVP se escogieron las localizaciones donde las lesiones poseían características clínicas más notables, que coincidieron en casi todos los casos con las ubicaciones donde se realizó posteriormente la biopsia. Después se utilizó ImageJ para convertirlas a 8-bits y luego obtener una imagen binaria. Las muestras fueron sometidas a filtros de erosión y dilatación para efectuar finalmente los cálculos pertinentes [Figura 3]. La secuencia efectuada fue la siguiente:

- *Make binary*: con esta herramienta la imagen pasa a ser en blanco y negro.
- *Threshold*: el umbral distingue entre dos clases de píxeles, aquellos con valores por encima y por debajo del umbral especificado, de modo que los píxeles con valores superiores e inferiores se pueden tratar de forma diferente y efectuar así mediciones sobre ellos.

- *Erode*: elimina píxeles de los bordes de los objetos negros en una imagen binaria.
- *Dilate*: agrega píxeles a los bordes de los objetos negros en una imagen binaria.

Una vez aplicados estos filtros, se obtuvo el valor de la DF mediante un algoritmo de “box-counting”. Este es un método que permite el análisis de patrones complejos mediante su fragmentación en piezas más pequeñas. En este caso, los datos que utiliza son en forma de imágenes binarias, sobre las que opera con patrones extraídos de las mismas. De este modo, se obtiene un gráfico con el logaritmo de tamaño en el eje X y el de recuento en el eje Y, en el cual los datos aparecen ajustados en una recta. La pendiente de esta línea es el negativo del valor fractal, de modo que la  $DF = -$  pendiente.



**Figura 3.** Síntesis de los pasos seguidos en el procesamiento de imágenes. A: Recorte del área de interés de una imagen digital de una LO. B: Imagen convertida a 8 bits. C: Imagen binaria con los filtros “Erode” y “Dilate” ya aplicados.

### 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron introducidos en una base de datos que se cargó en el programa *SPSS v.24.0 (IBM, Statistics, NY, USA)* para Windows para realizar el análisis estadístico. Las variables categóricas se describieron mediante frecuencias y porcentajes y las variables cuantitativas mediante media y desviación estándar. Para estudiar las relaciones existentes entre las variables categóricas, se utilizó la prueba chi cuadrado y, se establecieron tablas de contingencia. Para las diferencias de medias se usó el test T-Student o ANOVA de una vía según condiciones de aplicación. Se estableció un intervalo de confianza del 95% en la comparación de la DF entre variables

y las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando el valor p fue <0'05. Para estudiar la validez diagnóstica de la DF se construyó una curva ROC para determinar el área bajo la curva (AUC), así como la sensibilidad y especificidad.

#### 4. Resultados

El presente estudio incluyó un total de 89 muestras y las características demográficas y clínicas pueden verse resumidas en la [Tabla 1]. La mayor parte de las lesiones se localizaron en encía queratinizada (N=42, 47'2%) y la localización menos frecuente fue el paladar blando (N=8, 9'0%).

**Tabla 1.** Distribución de los datos demográficos y clínicos de las muestras incluidas

|                            | <b>Variable</b>            | <b>N (89)</b> | <b>Porcentaje (%)</b> |
|----------------------------|----------------------------|---------------|-----------------------|
| <b>Sexo</b>                | Masculino                  | 5             | 5'6                   |
|                            | Femenino                   | 84            | 94'4                  |
| <b>Tabaco</b>              | No                         | 73            | 82                    |
|                            | Sí                         | 3             | 3'4                   |
|                            | Exfumador                  | 13            | 14'6                  |
| <b>Alcohol</b>             | No                         | 74            | 83'1                  |
|                            | Sí                         | 15            | 16'9                  |
| <b>Grupo</b>               | Mucosa sana / no displasia | 20            | 22'5                  |
|                            | No displasia a displasia   | 36            | 40'4                  |
|                            | Displasia a cáncer         | 8             | 9'0                   |
|                            | No displasia a cáncer      | 25            | 28'1                  |
| <b>Tipo de lesión</b>      | Mucosa sana                | 26            | 29'2                  |
|                            | Sin displasia              | 34            | 38'2                  |
|                            | Bajo grado                 | 15            | 16'9                  |
|                            | Alto grado                 | 3             | 3'4                   |
|                            | Carcinoma                  | 11            | 12'4                  |
| <b>Tipo de leucoplasia</b> | Homogénea                  | 23            | 25'8                  |
|                            | No homogénea               | 26            | 29'2                  |
|                            | Verrucosa proliferativa    | 40            | 44'9                  |
| <b>Localización</b>        | Lengua                     | 22            | 24'7                  |
|                            | Mucosa yugal               | 17            | 19'1                  |
|                            | Encía queratinizada        | 42            | 47'2                  |
|                            | Paladar blando             | 8             | 9'0                   |

|                    |                 |    |      |
|--------------------|-----------------|----|------|
| <b>Displasia</b>   | No              | 60 | 67'4 |
|                    | Sí              | 29 | 32'6 |
| <b>Sinergia</b>    | No              | 50 | 56'2 |
|                    | Sí (LPO)        | 39 | 43'8 |
| <b>Tratamiento</b> | Bisturí         | 42 | 47'2 |
|                    | Láser           | 33 | 37'1 |
|                    | Bisturí + láser | 5  | 5'6  |
|                    | Vaporización    | 9  | 10'1 |
| <b>Recurrencia</b> | No              | 43 | 48'3 |
|                    | Sí              | 36 | 40'4 |
|                    | No vaporizado   | 10 | 11'2 |

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la DF entre sexos ( $p=0'617$ ) ni se observó correlación entre el valor de la DF y la edad del paciente. De igual modo, el consumo de tabaco o alcohol no mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto a la ausencia de estos hábitos ( $p=0'173$  y  $p=0'762$ , respectivamente). El valor de las medias de las DF en función del sexo, consumo de tabaco y alcohol se encuentra detallado en la [Tabla 2](#).

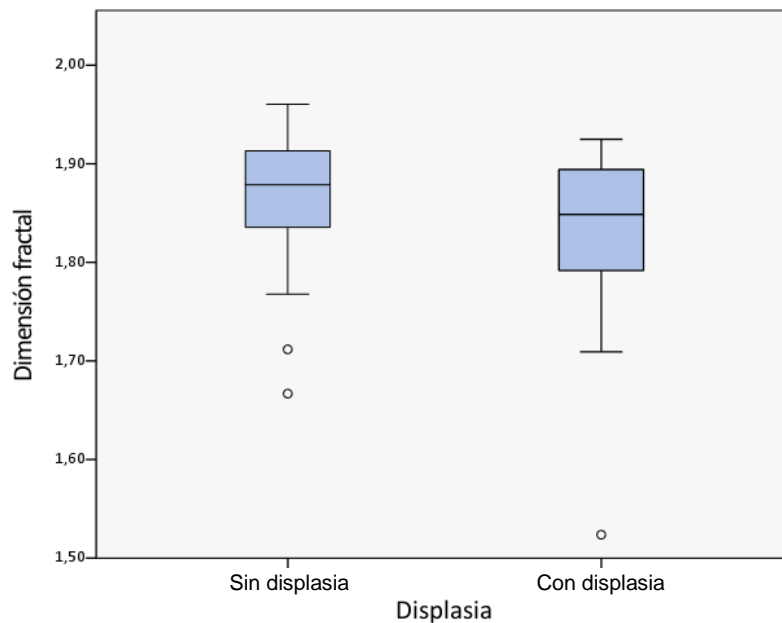
No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las DF en función del tipo de LO ( $p=0'104$ ). No obstante, sí se observó asociación estadísticamente significativa entre los valores de la DF y la localización de la LO ( $p=0'046$ ), donde cabe mencionar que los valores fueron más elevados en la mucosa yugal (DF media de  $1'898 \pm 0'028$ ) que en el resto de las localizaciones. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al estudiar la DF en diferentes localizaciones con respecto a la existencia o no de displasia ( $p=0'096$ ), como tampoco al estudiar la existencia o no de sinergia con LPO ni en función de haber o no haber vaporizado la lesión ( $p=0'375$  y  $0'183$ , respectivamente) [[Tabla 2](#)].

Por otro lado, los valores de DF entre aquellas lesiones con y sin displasia muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0'016$ ) aunque, como se recoge en la [Tabla 2](#), la media de DF fue superior en lesiones sin displasia que en aquellas que sí la presentaban ( $1'870 \pm 0'058$  frente a  $1'832 \pm 0'084$ , respectivamente). Asimismo, el tipo de displasia existente en la lesión (mucosa sana, LO sin displasia, LO con displasia de bajo o alto grado o carcinoma) mostró resultados estadísticamente significativos con respecto a las diferencias entre los valores de la DF ( $p=0'044$ ).

**Tabla 2.** Valores medios de DF de las muestras incluidas

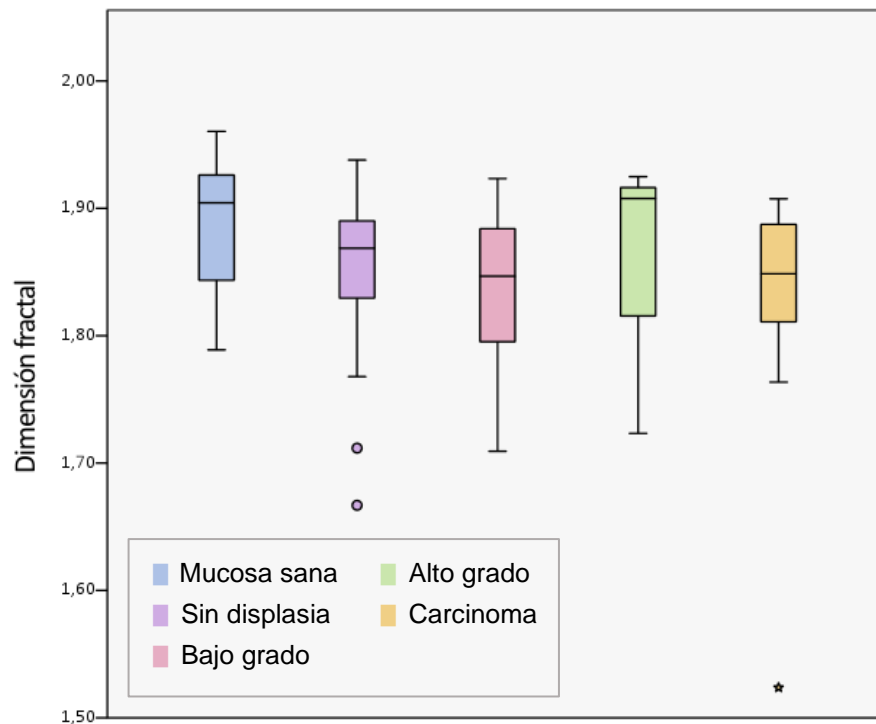
| Variable           |               | Media | SD    | 95% IC |        | p     |
|--------------------|---------------|-------|-------|--------|--------|-------|
|                    |               |       |       | Mínimo | Máximo |       |
| <b>Género</b>      | Masculino     | 1'873 | 0'087 | 1'764  | 1'981  | 0'617 |
|                    | Femenino      | 1'856 | 0'069 | 1'842  | 1'871  |       |
| <b>Tabaco</b>      | No            | 1'851 | 0'071 | 1'835  | 1'868  | 0'173 |
|                    | Sí            | 1'899 | 0'017 | 1'856  | 1'942  |       |
|                    | Exfumador     | 1'883 | 0'061 | 1'847  | 1'920  |       |
| <b>Alcohol</b>     | No            | 1'856 | 0'070 | 1'840  | 1'872  | 0'762 |
|                    | Sí            | 1'862 | 0'069 | 1'824  | 1'901  |       |
| <b>Recurrencia</b> | No            | 1'858 | 0'079 | 1'834  | 1'883  | 0'183 |
|                    | Sí            | 1'846 | 0'062 | 1'825  | 1'867  |       |
|                    | No vaporizado | 1'892 | 0'034 | 1'868  | 1'916  |       |
| <b>Displasia</b>   | No            | 1'870 | 0'058 | 1'855  | 1'884  | 0'016 |
|                    | Sí            | 1'832 | 0'084 | 1'800  | 1'864  |       |
| <b>Sinergia</b>    | No            | 1'863 | 0'055 | 1'847  | 1'879  | 0'375 |
|                    | Sí (LPO)      | 1'850 | 0'084 | 1'823  | 1'877  |       |

Se trazó además una curva ROC para determinar la capacidad discriminativa y la eficacia diagnóstica de la DF, estableciendo un punto de corte de 1'83 para discriminar resultados displásicos de no displásicos y un AUC = 0'565 (con un intervalo de confianza del 95% de 0'435 - 0'694). Además, se obtuvieron unos valores de sensibilidad del 37'9% y especificidad del 25%.



**Figura 4.** Box plot de la DF en lesiones con y sin displasia.

A partir de los resultados obtenidos se generó una gráfica box plot que ilustra los valores de la DF en las lesiones en función de la presencia o ausencia de displasia [Figura 4]. Se observa que en general, los del primer tipo se ubican en una posición algo superior con respecto a las lesiones displásicas, como se puede constatar al comparar ambas medianas. La Figura 5 es un gráfico del mismo tipo que muestra de forma sintetizada cómo se distribuyen los valores de DF en función del tipo de lesión.



**Figura 5.** Box plot de la DF en función del tipo de lesión

## 5. Discusión

La LO es una lesión cuyo diagnóstico y tratamiento es una cuestión de vital importancia dada su consideración de TOPM. La literatura muestra que de entre los distintos métodos de análisis de textura, la DF es una herramienta potencial que puede ser aplicada a la mucosa oral para diferenciar entre tejido normal, displásico y neoplásico. Así, se ha propuesto su utilización como índice que refleje los cambios morfológicos en el epitelio durante una transformación neoplásica.

Tal y como se ha explicado en la introducción, padecer un TOPM constituye un factor de riesgo para desarrollar cáncer. Como en estos casos es indispensable el seguimiento y detección temprana de cualquier transformación hacia la malignización, es necesario que se desarrollen medios que puedan contribuir a la realización de un diagnóstico lo más precoz posible.

Existen varios artículos en la literatura científica que han estudiado la DF como herramienta clínica. Ya en 1996 se planteó su utilización para diagnosticar lesiones tumorales en la mucosa oral a partir de imágenes histológicas y se obtuvo un 85% de acierto al clasificar muestras en mucosa normal, displasia epitelial o COCE. (14)

La evidencia disponible hasta la fecha muestra resultados heterogéneos. De esta forma, a pesar de que la gran mayoría de artículos sí encuentra diferencias entre tejidos normales y aquellos con displasia, no todos hallan por ejemplo utilidad para discernir las lesiones en función del estadio en que se encuentra el tumor. (15,16)

Iqbal *et al.* realizaron una comparación de los valores de DF en imágenes clínicas de LO y encontraron diferencias significativas entre lesiones displásicas y no displásicas, siendo los valores considerablemente más altos en el primer caso ( $1'24 \pm 0'16$  vs.  $1'12 \pm 0'21$ , respectivamente;  $p < 0'001$ ). Además, estos autores obtuvieron resultados significativos al comparar los distintos grupos de edad e incluso en función del consumo de distintos tipos de tabaco. (8)

Existen también estudios que han empleado la DF para verificar la efectividad del tratamiento de LO con láser, como el efectuado por Jurczyszyn *et al.* (9), que no halló diferencias entre el grupo control de mucosa sana y el grupo postoperatorio. Además, cabe señalar que este estudio obtuvo el valor más bajo en el grupo pre-operacional y el más elevado en el control. Este mismo autor trató de usar la DF para diferenciar la LO del LPO, pero no pudo confirmar que este método pueda ser usado para ello sin tener que recurrir a un estudio histopatológico. (17) Pandey *et al.* (13) también encuentran diferencias en la DF de LO antes y después de ser tratada, resultado que también obtiene el estudio de Reddy *et al.* (10)

Por su parte, el estudio de Raja *et al.* (15) registró una mayor DF en el grupo lesión. En este caso, se realizó el cálculo sobre imágenes de TC de pacientes con carcinoma

oral, aunque no se hallaron diferencias en función del estadio en el que se encontraba el tumor. Mincione *et al.* (18) sí encontraron diferencias significativas tanto entre los grupos test y control como en relación con el estadio y grado de diferenciación de los tumores. Asimismo, otros autores concluyen que la DF no solo es mayor en casos de carcinoma que en tejido normal, sino que además proponen la DF como factor pronóstico en la supervivencia de los pacientes con cáncer oral. (19)

Goutzanis *et al.* (16) realizaron un estudio sobre secciones histológicas con el fin de estudiar la DF a nivel vascular, y a pesar de que los carcinomas presentaron medias más altas que la mucosa normal, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos estadios de tumor, en función de las localizaciones de los mismos ni del tipo de presentación clínica (por ejemplo, entre úlcera y lesión exofítica).

A pesar de que la literatura en general encuentra diferencias muy significativas en los valores de DF cuando estudian ciertas variables, en este estudio factores como el hábito tabáquico o el alcohol no influyeron en los resultados, como tampoco lo hizo el tipo de LO. Una de las variables con mayor correlación en otros estudios fue la presencia o ausencia de displasia, que de acuerdo con los trabajos citados anteriormente parece relacionarse de forma clara con el valor de la DF. Aunque las diferencias en este trabajo sí fueron estadísticamente significativas, al contrario de lo que cabría esperar, la media de DF fue superior en lesiones sin displasia. De todos modos, hay que tener en cuenta que algunos de ellos son realizados sobre secciones histológicas (14,16,18) y no sobre imágenes clínicas, como es el caso de este estudio.

Los valores de los índices diagnósticos, como son la especificidad y sensibilidad, sugieren que la DF no es una prueba de alta fiabilidad diagnóstica, pues son bajos para considerar usar la DF de manera exclusiva como diferenciadora de la presencia de displasia. A pesar de los resultados, es importante tener en cuenta que pueden existir limitaciones o sesgos que hayan afectado a los mismos. Por otra parte, puede llegar a ser complicado disponer de registros fotográficos apropiados (por una inadecuada calidad de imágenes, ausencia de seguimiento en el tiempo...) y además la cavidad oral es un área donde puede ser un reto tomar fotografías, de forma que no es fácil conseguir la misma perspectiva de una lesión en diferentes momentos.

Además de estudiar la DF en casos de LO y LVP, sería conveniente estudiarla en otros TOPM para poder disponer de datos más amplios sobre esta herramienta y poder así en un futuro ampliar las aplicaciones e indicaciones de la geometría fractal. En este sentido, también se han realizado estudios de DF sobre otras entidades, como el LPO. Jurczynszyn *et al.* (20) trataron de relacionar la DF con la efectividad del tratamiento de esta lesión, pero solo se obtuvieron resultados significativos a cierta longitud de onda.

Otro de los TOPM de los que existen publicados estudios en relación a la DF es la fibrosis oral submucosa. En un estudio que valoraba la DF en el epitelio, se obtuvo como resultado que la mucosa oral normal tiene una DF mayor que la de las muestras de fibrosis oral submucosa, hecho que relaciona con que en este último caso se puede encontrar atrofia y adelgazamiento del epitelio superficial. (21)

El estudio de las posibles aplicaciones clínicas de la DF no se ha limitado a la cavidad oral, sino que se han diseñado estudios en otras localizaciones. Un ejemplo se encuentra en la identificación de carcinomas hepatocelulares primarios, metástasis hepáticas y tejido hepático normal circundante (22), así como en la predicción de la malignización tumoral en casos de cáncer de mama (23), ambos con resultados prometedores.

El análisis de la DF no solo ha sido llevado a cabo sobre imágenes clínicas, sino que autores como el ya mencionado Goutzanis *et al.* (19) han calculado la DF sobre imágenes de secciones histológicas. El principal beneficio de poder aplicar este tipo de técnicas sobre cortes histológicos radicaría en que un análisis matemático podría corregir el componente subjetivo que existe en la interpretación de imágenes histopatológicas por parte de los patólogos.

El diagnóstico definitivo de LO y LVP se obtiene actualmente a través de la biopsia. Aunque se trata del método de referencia, no está exenta de limitaciones, y muchas de ellas podrían ser solventadas a través de sistemas de análisis de imágenes. Además de la ya mencionada variabilidad en el diagnóstico entre distintos patólogos, la biopsia consiste en un procedimiento invasivo. Esto puede llegar incluso a provocar el rechazo por parte de algunos pacientes a someterse a una biopsia. Por otra parte, la biopsia no deja de ser la toma de una muestra representativa y en ocasiones es posible, habiendo displasia en la lesión, tomar una muestra en una localización no displásica.

Una de las aplicaciones de la DF que podría ser de gran utilidad sería su utilización en aquellos pacientes diagnosticados de LVP. Este tipo de LO requiere un seguimiento continuado y como son casos en los que existe una presentación multifocal y recurrente de las lesiones, podrían beneficiarse de un método no invasivo como es la DF y reducir el número de biopsias a las que se tienen que someter.

Estudiando lesiones con diferentes diagnósticos histopatológicos se esperaba encontrar un mayor valor fractal a medida que se producía evolución hacia la malignidad. Esta sospecha se fundamenta en la idea de que a medida que esto ocurría, se produciría un incremento en la complejidad del patrón global del tejido (13), ya que la DF cuantifica estructuras complejas a través de los píxeles. De todos modos, teniendo presentes los resultados obtenidos por otros autores, no se debería descartar la idea de emplear la DF para predecir la malignización, sino que sería conveniente aportar por ejemplo otras perspectivas o alternativas para el procesamiento de muestras.

Así, para poder llegar a considerar la DF como una técnica confiable, resulta imprescindible contar con nuevos estudios que refuercen las conclusiones a las que se ha llegado previamente en otros trabajos y que permitan seguir profundizando en este campo. Añadido a esto, gran parte de la literatura actual sobre este tema evalúa el valor de la DF antes y después de tratar la LO o relaciona su valor con el resultado de la biopsia en un momento concreto. En cambio, este trabajo aporta un nuevo enfoque, ya que realiza mediciones de forma retrospectiva sobre imágenes de LO y LVP y las compara tanto con un control sano como con la misma lesión en otro momento, incluyendo casos donde se desarrolló COCE.

De confirmarse los resultados obtenidos por otros autores, sería conveniente estandarizar el método de procesamiento de imágenes, de modo que existan unos criterios unificados que permitan llevar a cabo el cálculo de la DF. De igual modo, sería preciso disponer de cifras de referencia que permitan marcar, por ejemplo, dónde se ubica el umbral para considerar que existe malignización. Reiterando la necesidad de realizar nuevos estudios, se debe tener presente que una de las limitaciones más habituales en los artículos publicados sobre este tema es que se emplean muestras de poca amplitud. En consecuencia, sería necesario corregir este y cualquier otro obstáculo que impida contar con una mínima calidad.

## **6. Conclusiones**

Respondiendo a los objetivos planteados y tras valorar la evidencia científica publicada, la DF sí parece ser una potencial herramienta que puede traer beneficios a la atención clínica y puede tener un papel de gran valor en la telemedicina. Actualmente no goza de aplicación clínica y está reservada al ámbito de la investigación, pero lograr un algoritmo capaz de monitorizar la evolución de una LO o LVP daría lugar a un valioso instrumento para el diagnóstico precoz.

Como se ha comentado, poder hacer un diagnóstico de forma no invasiva y eficaz resultaría muy beneficioso. Aunque no sustituya a la biopsia como test de referencia, de consolidar la DF como herramienta clínica, podría llegar a ser una prueba complementaria económica, capaz de ahorrar tiempo y llevar un adecuado seguimiento de los pacientes.

El perfeccionamiento de la metodología podría convertir la DF en un instrumento especialmente conveniente en situaciones como países que disponen de recursos limitados y acceso restringido a ciertas tecnologías. Estamos ante una herramienta aún en desarrollo y sería necesario por tanto que se realicen más estudios de calidad, así como trabajar en la mejora del algoritmo que ofrezca garantías en cuanto a la fiabilidad diagnóstica.

## 7. Bibliografía

(1) Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, Bagan JV, González-Moles MÁ, Kerr AR, et al. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis.* 2021;27(8):1862-1880.

(2) Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med.* 2007;36(10):575-580.

(3) Aguirre-Urizar JM, Lafuente-Ibáñez de Mendoza I, Warnakulasuriya S. Malignant transformation of oral leukoplakia: Systematic review and meta-analysis of the last 5 years. *Oral Dis.* 2021;27(8):1881-1895.

(4) Mehanna HM, Rattay T, Smith J, McConkey CC. Treatment and follow-up of oral dysplasia - a systematic review and meta-analysis. *Head Neck.* 2009;31(12):1600-1609.

(5) Cerero-Lapiedra R, Baladé-Martínez D, Moreno-López L, Esparza-Gómez G, Bagán JV. Proliferative verrucous leukoplakia: A proposal for diagnostic criteria. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15(6):839-845.

(6) Kujan O, Oliver RJ, Khattab A, Roberts SA, Thakker N, Sloan P. Evaluation of a new binary system of grading oral epithelial dysplasia for prediction of malignant transformation. *Oral Oncol.* 2006;42(10):987-993.

(7) Iocca O, Sollecito TP, Alawi F, Weinstein GS, Newman JG, Virgilio AD, et al. Potentially malignant disorders of the oral cavity and oral dysplasia: A systematic review and meta-analysis of malignant transformation rate by subtype. *Head Neck.* 2019;42(3):539-555.

(8) Iqbal J, Patil R, Khanna V, Tripathi A, Singh V, Munshi MAI, et al. Role of fractal analysis in detection of dysplasia in potentially malignant disorders. *J Family Med Prim Care.* 2020;9(5):2448-2453.

(9) Jurczyszyn K, Kozakiewicz M. Application of Texture and Fractal Dimension Analysis to Estimate Effectiveness of Oral Leukoplakia Treatment Using an Er:YAG Laser-A Prospective Study. *Materials*. 2020;13(16).

(10) Reddy CH, Anitha M, Feroz A, Chandrashekar L, Sudarshan R, Vigneswary. Digital Imaging Analysis with Fractal Dimension in Oral Leukoplakia. *Asian J Res Med Pharm Sci*. 2017;2(1):1-5.

(11) Di Ieva A, Grizzi F, Gaetani P, Goglia U, Tschabitscher M, Mortini P, et al. Euclidean and fractal geometry of microvascular networks in normal and neoplastic pituitary tissue. *Neurosurg Rev*. 2008;31(3):271-281.

(12) Mandelbrot BB. *The Fractal Geometry of Nature*. San Francisco: Henry Holt and Company; 1983.

(13) Pandey PB, Kandakurti S, Saxena VS, Tripathi P, Pamula R, Yadav M. Fractal analysis in oral leukoplakia. *J Indian Acad Oral Med Radiol*. 2015;27(3):354-358.

(14) Landini G, Rippin JW. How important is tumour shape? Quantification of the epithelial-connective tissue interface in oral lesions using local connected fractal dimension analysis. *J Pathol*. 1996;179(2):210-217.

(15) Raja JV, Khan M, Ramachandra VK, Al-Kadi O. Texture analysis of CT images in the characterization of oral cancers involving buccal mucosa. *Dentomaxillofac Radiol*. 2012;41(6):475-480.

(16) Goutzanis LP, Papadogeorgakis N, Pavlopoulos PM, Petsinis V, Plochoras I, Eleftheriadis E, et al. Vascular fractal dimension and total vascular area in the study of oral cancer. *Head Neck*. 2009;31(3):298-307.

(17) Jurczyszyn K, Kazubowska K, Kubasiewicz-Ross P, Ziółkowski P, Dominiak M. Application of fractal dimension analysis and photodynamic diagnosis in the case of differentiation between lichen planus and leukoplakia: A preliminary study. *Adv Clin Exp Med*. 2018;27(12):1729-1736.

(18) Mincione G, Di Nicola M, Di Marcantonio MC, Muraro R, Piattelli A, Rubini C, et al. Nuclear fractal dimension in oral squamous cell carcinoma: a novel method for the evaluation of grading, staging, and survival. *J Oral Pathol Med.* 2015;44(9):680-684.

(19) Goutzanis L, Papadogeorgakis N, Pavlopoulos PM, Katti K, Petsinis V, Plochoras I, et al. Nuclear fractal dimension as a prognostic factor in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2008;44(4):345-353.

(20) Jurczyszyn K, Trzeciakowski W, Kozakiewicz M, Kida D, Malec K, Karolewicz B, et al. Fractal Dimension and Texture Analysis of Lesion Autofluorescence in the Evaluation of Oral Lichen Planus Treatment Effectiveness. *Materials.* 2021;14(18).

(21) Muthu Rama Krishnan M, Shah P, Pal M, Chakraborty C, Paul RR, Chatterjee J, et al. Structural markers for normal oral mucosa and oral sub-mucous fibrosis. *Micron.* 2010;41(4):312-320.

(22) Streba CT, Pirici D, Vere CC, Mogoantă L, Comănescu V, Rogoveanu I. Fractal analysis differentiation of nuclear and vascular patterns in hepatocellular carcinomas and hepatic metastasis. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52(3):845-854.

(23) Chan A, Tuszynski JA. Automatic prediction of tumour malignancy in breast cancer with fractal dimension. *R Soc Open Sci.* 2016;3(12):160558.