Universidade de Santiago de Compostela

Facultad de Medicina y Odontología

Departamento de Estomatología

Tesis Doctoral

ESTUDIO DE LA TRANSFORMACIÓN MALIGNA Y FACTORES DE RIESGO EN PACIENTES CON LEUCOPLASIA ORAL.



Pilar Gándara Vila

Santiago de Compostela 2014

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Dña MERCEDES GALLAS TORREIRA, Profesora Contratada Doctor de Clínica Odontológica Integrada de Adultos de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela; D. JOSÉ MANUEL SUÁREZ PEÑARANDA Profesor Titular de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela; y D. MARIO PEREZ SAYÁNS GARCIA, Profesor Asociado de Clínica Odontológica Integrada de Adultos de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela

CERTIFICAN

Que la presente Tesis Doctoral titulada "ESTUDIO DE LA TRANSFORMACIÓN MALIGNA Y FACTORES DE RIESGO EN PACIENTES CON LEUCOPLASIA ORAL", ha sido elaborada por Dña. PILAR GANDARA VILA bajo nuestra dirección hallándose concluida autorizamos su presentación a fin de que pueda ser defendida ante el Tribunal correspondiente.

Y para que así conste, se expide la presente certificación en Santiago de Compostela a 14 de Mayo de 2014.

Profa. Dra. Dña. Mercedes Gallas Torreira

Prof. Dr. D. José M. Suárez Peñaranda

Prof. Dr. D. Mario Pérez Sayáns García

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

A los mios

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han prestado ayuda y colaboración en la realización de la presente tesis y de forma muy especial:

En primer lugar a mi familia

A mis hijos Pili, Clara y Salva porque son lo mejor que me ha pasado en la vida.

A mi marido, por el tiempo robado, porque sin su apoyo no lo hubiera podido conseguir, gracias por acompañarme y ayudarme.

A mi madre, por darme la vida, por enseñarme a ser mujer y madre, porque sigo tu ejemplo y por ser apoyo incondicional. Gracias

A mi padre, por ser mi modelo a seguir, como padre, como investigador, como trabajador incansable. Por predicar con tu ejemplo y enseñarnos a ser personas. Gracias.

A todos los portadores del gen "Vila" porque somos y seguiremos siendo así. Especialmente a mis hermanos.

A mis directores

A Mario, por ser como es, como persona, como investigador como amigo, no te canses de irradiar esa genialidad y esa bondad. Por ayudar sin esperar nada a cambio.

A Mercedes Gallas, por creer en mí y por darme su apoyo, sin su ayuda hoy no habría terminado este trabajo. Muchas gracias. Voy a echar de menos tus mails semanales pidiéndome "algo para leer".

A José Manuel Peñaranda por su inestimable ayuda y paciencia en la realización de esta tesis doctoral y por el trabajo y esfuerzo que día a día lleva a cabo.

A Abel maestro y amigo, por su confianza y apoyo durante todos estos años, por darnos la oportunidad y brindarnos su experiencia. Y a María José, porque siempre está ahí, por contar con ella cuando la necesitamos.

A mis compañeros y amigos de la Unidad Docente de Medicina Oral y a todos los alumnos del Máster de Medicina Oral, Cirugía Oral e Implantología, porque sin su trabajo diario no sería posible este estudio.

A todos los colaboradores que aportan su granito de arena, su experiencia clínica y su tiempo ese bien tan escaso, para que esto siga funcionando.

En especial a Manuel Somoza, Loli Reboiras, Victor Ramil por su amistad, porque seguimos resistiendo año tras año y ya van unos cuantos.

Al Personal del Laboratorio de Anatomía Patológica por la colaboración prestada en el procesamiento de las muestras, especialmente a Elena y a Yolanda.

A María por su inestimable ayuda con la estadística. Y a Ernesto por su ayuda desinteresada.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Índice:

I.- INTRODUCCIÓN 17

I.1.-CONCEPTO. EVOLUCIÓN HISTÓRICA 17
I.2.-EPIDEMIOLOGIA 18
I.3.- ETIOLOGÍA 19
I.3.1.-Tabaco y Nuez de areca 19
I.3.2.-Alcohol 20
I.3.3.-Traumatismos 20
I.3.4.-Infecciones 21
I.3.4.1.-Cándida 21
I.3.4.2.-Virus del papiloma humano 22
I.3.4.3.-Virus de Epstein Barr 22
I.3.5.-Factores nutricionales y enfermedades sistémicas 23
I.3.6.-Colutorios 23
I.4.-CLÍNICA, CLASIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN 24
I.4.1.-Clínica 24
I.4.2.-Clasificación 24
I.4.3.-Localización 28
Leucoplasia verrucosa proliferativa 29
I.5.-HISTOPATOLOGÍA 31
I.5.1.-Concepto de displasia y clasificación 31
I.6.-DIAGNÓSTICO 36
I.6.1.-Diagnóstico provisional 36
I.6.2.-Diagnóstico definitivo 38
I.7.-ESTADIAJE 39
I.8.-EVOLUCIÓN Y PRONÓSTICO 41
I.9.- TRATAMIENTO 44

II.- JUSTIFICACION Y OBJETIVOS 53

III.- MATERIAL Y MÉTODO 57

III.1.-SELECCIÓN DE PACIENTES 57
III.1.1.-Criterios de inclusión y exclusión 58
III.2.-DATOS CLINICOS 59
III.2.1.-Factores de riesgo 59
III.2.1.1.-Tabaco 59
III.2.1.2 -Alcohol 60
III.2.2.-Características clínicas de la lesión 60
III.2.2.1.- Aspecto clínico 60
III.2.2.2.- Tamaño de la lesión 61
III.2.2.3.- Localización 62
III.2.2.4.- Número de localizaciones afectadas 63
III.2.2.5.- Tipo de biopsia y número 63

III.2.3.-Evolución de las lesiones 64
III.3.-ESTUDIO HISTOLOGICO CONVENCIONAL 65
III.4.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO 66
III.5.-ASPECTOS ETICOS 67

IV.- RESULTADOS 71

IV.1.-SELECCIÓN DE PACIENTES 71
IV.2.-DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA 71
IV.2.1.-EDAD 72
IV.2.2.-SEXO 72
IV.2.3 -TABACO 73
IV.2.4.-ALCOHOL 76
IV.2.5.-ASPECTO CLÍNICO DE LA LESIÓN EN LA VISITA INICIAL 77
IV.2.6.-TAMAÑO 80
IV.2.7. NÚMERO DE LA LESIONES EN LA VISITA INICIAL 81
IV.2.8. LOCALIZACIÓN DE LA LESIÓN BIOPSIADA 83
IV.3.-DATOS ANATOMOPATOLOGICOS 88
IV.3.1- Estudio de concordancia de valoración de displasia 89
IV.3.2.-Presencia de displasia 92
IV.4.-SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES 93
IV.4.1.-Biopsias realizadas a cada paciente 93
IV.4.2.-EVOLUCIÓN DE LAS LESIONES 94
IV.5. ESTUDIO ESTADISTICO DE VALORACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO DE DISPLASIA 96
IV.6. ESTUDIO ESTADISTICO DE SUPERVIVENCIA 98

V.-DISCUSION 107

V.1.-SELECCIÓN DE LA MUESTRA 108
V.2. FACTORES DE RIESGO 109
V.3 ASPECTO CLÍNICO DE LA LESIÓN 112
V.4 DATOS ANATOMOPATOLOGICOS 114
V.5.- SEGUIMIENTO DE LAS LESIONES 116
V.6.-ESTUDIO DE LOS FACTORES DE RIESGO Y GRADO DE DISPLASIA 116
V.7.-ESTUDIO DE SUPERVIVENCIA 121

VI.-CONCLUSIONES 135

VII.-BIBLIOGRAFÍA 139

VIII.-ANEXOS 155

Anexos I. 157
Anexo II 161
Anexo III 167
Anexo IV 169

Índice Tablas

Tabla I.1.-Clasificación clínica de la leucoplasia según Amagasa T(70) 27

Tabla I.2.- Criterios usados para diagnóstico de displasia(4) 32

Tabla I.3.-Diagnóstico diferencial de la leucoplasia oral(5). 37

Tabla I.4.-Factor de certeza (C) del diagnóstico de la leucoplasia oral(2) 39

Tabla I.5.-Clasificación y sistema de estadiaje de la leucoplasia oral(2) 40

Tabla I.6.-Factores de riesgo de transformación maligna(23) 41

Tabla III.1.-Clasificación de las localizaciones recogidas 63

Tabla IV.1.-Distribución (%) del número de individuos por grupos de edad y sexo. 72

Tabla IV. 2.- Distribución (%) de los hábitos de tabaco y alcohol (en U/semana) de los 90 pacientes por sexo. 76

Tabla IV.3.-Distribución (%) de la forma clínica y grupos de edad 78

Tabla IV.4.-Distribución (%) de la forma clínica de los 90 pacientes por sexo. 79

Tabla IV.5.-Distribución (%) de la forma clínica y hábito tabáquico 79

Tabla IV.6.-Distribución (%) de la forma clínica y hábito alcohólico 79

Tabla IV.7.-Distribución (%) del número de lesiones y el tamaño en los 90 pacientes por sexo 81

Tabla IV.8.-Distribución (%) del número de lesiones y el tamaño de las lesiones y hábito tabáquico 82

Tabla IV.9.-Distribución (%) de la forma clínica y tamaño y número de lesiones 83

Tabla IV.10.- Distribución (%) de la forma clínica y tamaño de la leucoplasia 83

Tabla IV.11.- Distribución (%) de la localización 84

Tabla IV.12.-Distribución (%) de la localización en los 90 pacientes por sexo y forma clínica 86

Tabla IV.13.- Valoración del mismo patólogo de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen 89

Tabla IV.14.- Valoración del patólogo 1I y 2 de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen 90

Tabla IV.15.- Valoración del patólogo 1II y 2 de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen 91

Tabla IV.16.-Valoración del mismo patólogo de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen 91

Tabla IV.17.-Valoración del patólogo 1I y 2 de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen 91

Tabla IV.18.-Valoración del patólogo 1II y 2 de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen 91

Tabla IV.19.-Características clínicas de los pacientes que sufrieron un evento oncológico 95

Tabla IV.20.- Distribución (%) de los factores de riesgo y diagnóstico histopatológico de los 90 pacientes y, p-valores de comparación de riesgos. 96

Tabla IV.21.-Análisis de regresión logística 97

Tabla IV.22.- Distribución (%) de los factores de riesgo y diagnóstico histopatológico de los 85 pacientes y, p-valores de comparación de riesgos. 99

Tabla IV.23.-Análisis de regresión logística 100

Tabla IV.24.-Análisis de supervivencia para la no malignización de leucoplasias orales. 102

Tabla IV.25.- Análisis de supervivencia de los factores de riesgo para la Transformación maligna de leucoplasias orales. 102

Tabla VII.1.-Porcentajes de transformación maligna de la leucopolasia oral 123

Tabla VII.2.-Superviviencia libre de transformación maligna de leucoplasia oral 125

Índice Figuras

Figura 1.1.-Leucoplasia homogénea en suelo de boca 25

Figura 1.2.-Leucoplasia moteada en mucosa yugal 25

Figura 1.3.-Leucoplasia nodular en mucosa yugal 26

Figura 1.4.-Leucoplasia no homogenea verrucosa en paladar duro 26

Figura 1.5.-Leucoplasia verrucosa proliferativa 29

Figura 1.6.- Diferentes grados de displasia, desde hiperqueratosis simple (A) a carcinoma invasivo con islas epiteliales en el tejido conectivo (P)(88) 35

Figura 1.7.- Recomendación de tratamiento de leucoplasia según Van der Wall(23) 46

Figura 4.1.-Distribución de los 90 pacientes por sexo y percentiles de edad. 73

Figura 4.2.-Habito tabáquico y sexo 74

Figura 4.3.-Sexo por grupo de edad frente a condición hábito tabáquico 74

Figura 4.4.-Forma clínica en los 90 pacientes 77

Figura 4.5.-Distribución de forma clínica por sexo y grupo de edad 78

Figura 4.6.-Tamaño de leucoplasia distribuida por grupos de edad 80

Figura 4.7.- Forma clínica y numero de lesiones 82

Figura 4.8.-Localización distribuida según percentiles 85

Figura 4.9.-Forma clínica y localización 86

Figura 4.10.-Localización en pacientes no fumadores 87

Figura 4.11.-Localización en pacientes fumadores 88

Figura 4.12.-Distribución de grado de displasia inicial 92

Figura 4.13.-Gráfico comparativo de las medias de edad según displasia 93

Figura 4.14.-Evolución de las lesiones en los 90 pacientes 94

Figura 4.15.-Supervivencia libre de transformación maligna durante el período de seguimiento. 101

Figura 4.16.-Supervivencia libre de cáncer oral durante el período de seguimiento por localización y diagnóstico histopatológico inicial. 103

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

I- INTRODUCCIÓN

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

I.- INTRODUCCIÓN

La OMS(1) define como *lesión precancerosa*, aquel tejido morfológicamente alterado en el que el cáncer puede aparecer más fácilmente que en el tejido equivalente de apariencia normal, y como condición o *estado precanceroso* aquel estado generalizado del organismo asociado con un incremento significativo del riesgo de desarrollar cáncer. Considerando como lesión precancerosa la leucoplasia.

En 2005, en un *workshop* de la OMS celebrado en el Reino Unido (2,3), se llevó a cabo, una revisión de la terminología, definición y clasificación de las lesiones orales con predisposición a la transformación maligna, en el se decidió que el término "potencialmente maligno" era más apropiado que premaligna, precursora(4) o precancerosa(1). Y se recomendó el abandono de la distinción entre lesiones y condiciones potencialmente malignas y en su lugar promover el uso de "desórdenes/alteraciones potencialmente malignos".

Se consideran desórdenes potencialmente malignos la ***leucoplasia,*** eritroplasia, lesiones palatinas por fumar invertido, fibrosis oral submucosa, queratosis actínica, liquen plano, lupus eritematoso discoide, enfermedades hereditarias como son la disqueratosis congénita y la epidermólisis bullosa(5).

I.1.-CONCEPTO. EVOLUCIÓN HISTÓRICA

Desde el punto de vista etimológico el término ***leucoplasia*** (del griego leykós, blanco y plasía, proliferación) significa crecimiento o proliferación blanca, fue propuesto por Schwimmer en 1887(6) y desde su acuñamiento y hasta el momento actual ha sido entendido con significados muy diversos.

Posteriormente en 1978, la *Who collaborating center for oral precancerous lesions*(7) la define como *"Una mancha blanca que no puede ser caracterizada clínica o patológicamente como ninguna otra enfermedad"*. Ésta incluye solamente aspectos clínicos y no considera los histopatológicos.

Años más tarde durante la primera conferencia internacional de leucoplasia oral que tuvo lugar en Malmö (Suecia) en 1983(8), se definió como *"una mancha o placa blanca, que no puede ser caracterizada clínica o patológicamente como ninguna otra enfermedad y no se asocia con ningún agente causal físico o químico, excepto el uso del tabaco"* eliminando de la definición las lesiones de leucoplasia provocadas por agentes mecánicos tales como lesiones friccionales, asociadas a restauraciones dentales o provocadas por mordisqueo.

En 1994, en Uppsala (Suecia) (9), se hace referencia a la posibilidad de transformación maligna al determinar leucoplasia como: *"Lesión predominantemente blanca de la mucosa oral que no puede ser caracterizada como ninguna otra lesión definible, alguna de ellas pueden transformarse en cáncer".*

Y en la última reunión celebrada en 2005 (5) se acepta como:*"Placa blanca de riesgo cuestionable habiendo excluído (otras) enfermedades conocidas o alteraciones que no suponen un aumento de riesgo de cáncer*"

I.2.-EPIDEMIOLOGIA

Según Petti(10) la prevalencia mundial estimada de leucoplasia oral es de 1,72%-2,60%. Los datos de prevalencia varía según el sexo, la edad, la raza(11,12) y el área geográfica de residencia(13) debido fundamentalmente a los diferentes hábitos.

En cuanto al sexo existen diferencias geográficas. Se estima que menos del 1% de los hombres afectados son menores de 30 años y que la prevalencia aumenta al 8% en hombres mayores de 70 años y al 2% en mujeres de la misma edad (14). Estas lesiones son más frecuentes en hombres que en mujeres(15,16).

En los países desarrollados la leucoplasia afecta a individuos entre la cuarta y séptima década de la vida. Mientras que en los países en vías de desarrollo la aparición se anticipa de 5 a 10 años(17,18). Incluso en los países en los que el consumo de nuez de areca está extendido la leucoplasia puede aparecer en la adolescencia alrededor de los 15 años(19,20).

I.3.- ETIOLOGÍA

Alrededor del 70-90% de las leucoplasias están relacionadas con el tabaco y el uso de la nuez de areca. Pero los factores implicados en la patogénesis del resto de las leucoplasias se desconoce. De hecho, como veremos en el apartado de clasificación en relación a la etiología, las leucoplasias se dividen en aquellas relacionadas con el consumo de tabaco y las idiopáticas de las cuales se desconoce la causa(8). A continuación detallamos los posibles factores relacionados con la etiología de estas lesiones.

I.3.1.-Tabaco y Nuez de areca

Actualmente se admite que el tabaco, es el factor más claramente asociado con la aparición de leucoplasia, de hecho se incluye esta relación en la propia definición que se acuñó en el año 1983 en Malmö (Suecia)(8). Las diferentes formas de consumo pueden producir la aparición de leucoplasia, tanto el tabaco fumado como el masticable, “sin humo”, muy extendido en Estados Unidos y Canadá, o el snuff en los Países Nórdicos como Suecia(3).

La leucoplasia es 6 veces más común entre fumadores que entre no fumadores(21) y el riesgo de aparición está en relación con la cantidad consumida y la duración del hábito tabáquico(3).

Cuando hablamos de tabaco mascado nos encontramos con cifras de remisión de la lesión del 97.5% después de 6 semanas de abandonado el hábito lo que apoya la relación causa efecto claramente(22). Hay autores que recomiendan considerar las lesiones producidas por el tabaco mascado o snuff como una entidad diferente debido a su evolución(14,23).

Cuando consideramos el tabaco fumado el cese del hábito después de al menos 1 año causa la resolución de la leucoplasia en el 58,3% de los casos según Roed-Petersen(24).

En la India y Sudeste de Asia, el uso crónico de ***betel o nuez de areca mascado*** (*paan*) se ha relacionado con el aumento de riesgo de cáncer oral y la aparición de leucoplasia(3). La mascada típica consiste en una hoja de betel

que envuelve una mezcla de nuez de areca, cal, normalmente tabaco y algunas veces edulcorantes y condimentos.(14). Sin embargo, su consumo no está extendido en nuestro país.

Pero no sólo hablamos en este caso de la influencia del tabaco como posible factor etiológico sino que también es considerado un carcinógeno en sí mismo, influyendo incluso en el grado de displasia presente en los pacientes con leucoplasia, el riesgo de presencia de displasia es 7 veces mayor para un paciente fumador o ex-fumador reciente si lo comparamos con un no fumador o un ex-fumador de 10 o más años(25). Siendo necesario que pasen 15 años para que el riesgo de presencia de displasia se iguale a la de un no fumador(26).

I.3.2.-Alcohol

Existe evidencia científica de que el consumo de ***alcohol*** es un factor de riesgo independiente en el cáncer oral(27,28). Sin embargo, el papel del alcohol en las lesiones premalignas es controvertido, algunos autores no lo asocian con la aparición de la leucoplasia pero si observan que aumenta el riesgo de transformación maligna, y lo consideran un promotor tumoral, más que un iniciador(29). Otros autores, en cambio, sí lo consideran un factor de aparición de lesiones potencialmente malignas por si mismo independientemente del tipo de bebida y del consumo(30).

No hay estudios disponibles en la literatura en los que se haya examinado el cese del hábito alcohólico como factor independiente en la aparición de leucoplasias(31).

I.3.3.-Traumatismos

La influencia de los factores irritativos crónicos en el origen de la leucoplasia es un tema muy controvertido. Inicialmente estas lesiones se incluían dentro del término leucoplasia, desde la reunión de Malmö (1983) éstas fueron excluídas.

Las queratosis friccionales son lesiones blancas sin eritema ni ulceración, que aparecen en áreas de roce como borde lateral de lengua, mucosa yugal a nivel del plano de oclusión y crestas edéntulas o el área retromolar(32), que se relacionan con la acción irritativa de agentes traumáticos(6). Las queratosis en cresta alveolar raramente muestran cambios displásicos o se transforman en carcinomas, la mayoría de los expertos prefieren considerarlos en una categoría diferente más que etiquetarlos de leucoplasias(14,33,34)

I.3.4.-Infecciones

I.3.4.1.-Cándida

La candidiasias orofaríngea es la infección fúngica más común entre los humanos. Se ha demostrado la presencia de cándidas en el epitelio de lesiones leucoplásicas lo que parece responder más a una sobreinfección que a una causa(16). Tambien se ha aislado con mayor frecuencia hifas de cándida entre lesiones de leucoplasia que presentan un mayor grado de displasia(35).

Se considera la sobreinfección fúngica como un factor prooncogénico relevante(36) porque han sido aisladas en las leucoplasias, especies del género Cándida, alguno con un alto potencial de nitrosaminación, lo que se traduce en la producción de nitrosaminas endógenas carcinogénicas(37,38).

También se ha demostrado que Cándidas Albicans aisladas de pacientes con alteraciones potencialmente malignas son capaces de producir cantidades mutagénicas de acetaldehido, cuando son expuestas a sustratos como el vino o el etanol. Este carcinogénico puede contribuir a la patogénesis de la lesión y a su transformación maligna(39).

El tratamiento antifúngico no elimina la lesión pero sí provoca cambios en la apariencia clínica, pasando de una lesión nodular o moteada a una leucoplasia homogénea(40).

I.3.4.2.-Virus del papiloma humano

El papel del virus del papiloma humano (VPH) en la cavidad oral se desconoce, ya que su presencia ha sido descrita en la mucosa oral de apariencia normal(41-43), en relación a lesiones potencialmente malignas(44-46) y malignas(47-49). Algunos autores, sugieren que la cavidad oral es un reservorio de VPH, y la infección en combinación con otros factores se asocia al desarrollo posterior de lesiones escamosas orales, así como displasia y cáncer(50).

En la literatura científica encontramos una fuerte asociación entre la presencia de VPH y las lesiones potencialmente malignas como la leucoplasia. Miller establece tras realizar un metaanálisis sobre el VPH como factor de riesgo en el carcinoma de células escamosas que la probabilidad de detectar el VPH es de 2 a 3 veces mayor en las lesiones precancerosas y de 4 a 5 veces más alta en carcinomas de células escamosas que en mucosa oral normal (51).

Los tipos de VPH más frecuentemente relacionados con la leucoplasia oral son el VPH16(45,52-54) y VPH18(53,54), ambos de alto riesgo. Aunque también se han descrito la presencia de tipos de VPH de bajo riesgo como VPH6 y 11(44).

En lo que respecta a la leucoplasia verrucosa proliferativa también la asociación con el VPH resulta controvertida (55,56)

I.3.4.3.-Virus de Epstein Barr

El Virus de Epstein Barr (VEB) está en clara relación con la leucoplasia vellosa en los pacientes VIH positivos (57).

Aunque ha sido identificado en lesiones de carcinoma oral de células escamosas de la cavidad oral, en mucosa oral sana y en lesiones de leucoplasia, no se ha podido establecer una relación causal (58,59).

I.3.5.-Factores nutricionales y enfermedades sistémicas

Hay enfermedades sistémicas como la disqueratosis congénita(60), que cursa con la lesiones similares a leucoplasia oral en la cara dorsal de la lengua, esta enfermedad es considerada una alteración potencialmente maligna, ya que sobre estas áreas blancas se han descrito cambios malignos(5).

Algunos autores han intentado relacionar los niveles séricos de determinadas vitaminas(61) y los niveles de colesterol con la presencia de lesiones de leucoplasia(62,63).

Entre los *factores nutricionales* relacionados con la etiología podemos considerar:

-Hipovitaminosis. La Vitamina A, como protectora de las mucosas, en situaciones de carencia o disminución, puede provocar una hiperqueratinización de los epitelios cornificados lo que ha sugerido una posible causa de leucoplasia. El consumo de más de dos porciones de frutas y verduras ricas en β-caroteno, precursor de la vitamnina A, reduce significativamente el riesgo de padecer una alteración potencialmente maligna y leucoplasia(64).

-Anemia. La anemia ferropénica que constituye parte del Síndrome de Plummer-Vinson o de Patterson-Kelly caracterizado por disfagia, coiloniquia e hiperproteinemia, presenta a nivel oral queilitis angular, atrofia papilar lingual y leucoplasia. La anemia perniciosa también predispone a la leucoplasia y al cáncer fundamentalmente en la faringe.

I.3.6.-Colutorios

A finales de los 90 se demostró la asociación de una forma característica de leucoplasia en zona vestibular del maxilar y el uso del extracto de *sanguinaria*, presente en la composición de colutorios y pastas dentífricas Viadent®, empleados en el control de placa bacteriana(65). Estos productos fueron retirados del mercado con motivo de este descubrimiento.

I.4.-CLÍNICA, CLASIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN

I.4.1.-Clínica

La leucoplasia, no suele dar sintomatología(66), todo lo más una sensación de rugosidad o de cuerpo extraño o molestias inespecíficas como escozor o sensación de tirantez, la forma no homogénea puede cursar con leve dolor localizado o molestia(13,16). La mayoría de las veces es un hallazgo casual por parte del paciente o del profesional durante las exploraciones rutinarias(16).

El enrojecimiento de la lesión o bien la induración a la palpación pueden ser signos de malignización(13).

I.4.2.-Clasificación

Podemos clasificar las leucoplasias desde un punto de vista etiológico y desde un punto de vista clínico.

En cuanto a la etiología, distinguimos la leucoplasia asociada al consumo de tabaco, tanto fumado como masticado, y la leucoplasia idiopática, de etiología desconocida(8).

La clasificación clínica de las leucoplasias se basa en su aspecto, en el color de la superficie y las características morfológicas, grosor de la lesión (5). A lo largo de los años se han descrito diferentes clasificaciones, basadas todas ellas en estas características clínicas. En el seminario Internacional sobre leucoplasia celebrado en Malmö en 1983 se consideran por consenso, dos grupos, la forma ***homogénea*** y la forma ***no homogénea***(8,67).

Forma homogénea: se ha definido como una lesión predominantemente blanca, uniformemente plana, que puede presentar grietas o hendiduras poco profundas y tiene una superficie fina, con depresiones y resaltes, su consistencia no es dura. Suelen ser asintomáticas, su hallazgo es casual y el paciente puede referir cierta sensación de rugosidad(5,68).

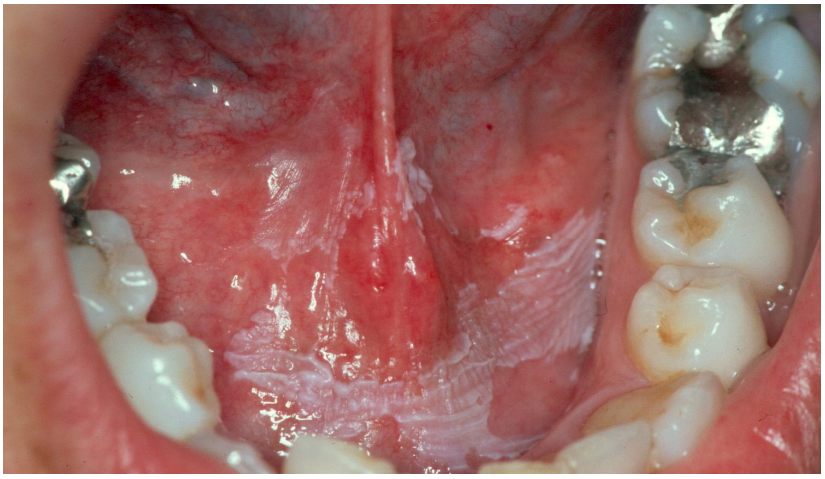


Figura 1.1.-Leucoplasia homogénea en suelo de boca

La forma no homogénea, es una lesión predominantemente blanca y/o roja, denominada eritroleucoplasia, con superficie irregular, nodular o exofítica, que tiene un riesgo mayor de transformación maligna e incluye varios tipos(5):

- Moteada: mixta, blanca y roja, pero predominantemente de carácter blanco.



Figura 1.2.-Leucoplasia moteada en mucosa yugal

- Nodular: con pequeños sobrecrecimientos polipoides, excrecencias redondas rojas o blancas

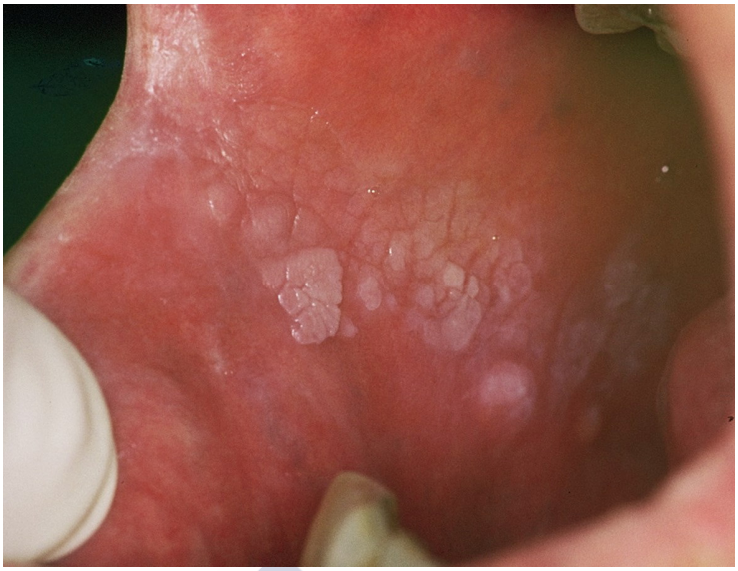


Figura 1.3.-Leucoplasia nodular en mucosa yugal

- Verrucosa: con superficie de apariencia rugosa u ondulada, aunque presenta una apariencia blanca uniforme, su textura verrucosa la diferencia de la leucoplasia homogénea. La leucoplasia verrucosa proliferativa es un subtipo de leucoplasia verrucosa que se caracteriza por tener una presentación multifocal, ser resistente al tratamiento y presentar un índice de transformación maligna más alto(23).



Figura 1.4.-Leucoplasia no homogenea verrucosa en paladar duro

Aunque se distinguen estas dos formas clínicas e inicialmente una leucoplasia será clasificada como homogénea o no homogénea, a lo largo de la evolución de la lesión se puede producir un cambio entre las diferentes formas clínicas(13). Así una leucoplasia homogénea puede derivar en cualquiera de las formas clínicas no homogéneas y viceversa, una leucoplasia no homogénea en origen se puede transformar en una leucoplasia homogénea(69).

En lo que respecta a la forma verrucosa no existen criterios clínicos reproducibles que puedan diferenciar la leucoplasia verrucosa de la hiperplasia verrucosa o el carcinoma verrucoso(13).

Es importante a la hora de clasificar la leucoplasia tener en cuenta descripciones clínicas adicionales, como pueden ser el posible factor etiológico, la descripción de la zona anatómica de la lesión, y el tamaño o la extensión de la misma(5).

Van der Waal(2) propone una clasificación de la leucoplasia en función del tamaño de la lesión y los resultados histológicos, señalando la presencia o no de displasia. Similar al estadiaje TNM empleado en el cáncer, como veremos más adelante.

A pesar de que la clasificación de la OMS es la más extendida y utilizada, se emplean en la actualidad otras clasificaciones, basadas tambien en la apariencia clínica de la lesión, como la clasificación realizada por Amagasa(70) que diferencia 4 tipos clínicos descritos en la tabla I.1, está basada en su experiencia clínica porque considera que las manifestaciones clínicas de la leucoplasia oral en Japón no se ajustan exactamente con los sistemas de clasificación existentes ya que encuentra pocos casos con apariencia nodular.

Tabla I.1.-Clasificación clínica de la leucoplasia según Amagasa T(70)

Tipo I:	Liso, placas o mancha blanca sin componentes rojos
Tipo II:	Liso, placa o mancha blanca con erosión o componente rojo
Tipo III:	Mancha o placa blanca ligeramente sobreelevado o elevado
Tipo IV:	Mancha o placa blanca marcadamente sobreelevado o elevado

I.4.3.-Localización

La leucoplasia oral puede afectar a cualquier área de la cavidad oral y de la orofaríngе(68). Su tamaño puede variar desde una pequeña placa a una lesión que involucra una extensa área de mucosa(7). De hecho la enfermedad multifocal con lesiones múltiples afecta entre el 3 al 24% de los pacientes con lesiones potencialmente malignas(71).

Podemos encontrarla en mucosa yugal en toda su extensión, incluyendo zona retrocomisural, (son las que con más frecuencia aparecen asociadas a candidiasis) ambos fondos de vestíbulo (superior e inferior); en el paladar, tanto en el paladar duro como en el blando; en la encía maxilar o mandibular en zona retromolar; en reborde alveolar de tramos edéntulos (en este caso tenemos que diferenciarla de la queratosis friccional(34)); en la lengua tanto en su cara dorsal, cara ventral como bordes laterales y en el suelo de la boca; y en labio tanto inferior como superior.

Las zonas de localización varían en función del área geográfica, esto es debido en parte a los distintos hábitos asociados al consumo de tabaco(13).

Las zonas más frecuentes entre los fumadores son la mucosa yugal y el suelo de la boca(72-74) mientras que en los no fumadores la zona más comúnmente afectada es la lengua(73,74), sobre todo los bordes laterales(72).

También parece que la localización gingival está asociada a un mayor índice de recurrencia(75).

Respecto a la zona anatómica, debería considerarse que el epitelio estratificado que recubre las estructuras presentes en la cavidad oral tienen diversos hallazgos histológicos, que podrían resultar en diferentes niveles de permeabilidad. Además, diferentes zonas con el mismo patrón de diferenciación epitelial presentan diferentes propiedades de permeabilidad(76).

En el caso concreto de leucoplasia por consumo de snuff, la localización de las lesiones se produce en el vestíbulo bucal bajo el área de contacto con el producto(40). Así un estudio realizado en jugadores profesionales de beisbol, determinó que la mayoría de las lesiones aparecían en el fondo vestibular mandibular labial/bucal coincidiendo con la zona de colocación de la mezcla(3).

Leucoplasia verrucosa proliferativa

Merece especial mención la forma verrucosa proliferativa por sus características clínicas especiales y su carácter agresivo.

Fue descrita por primera vez por Hansen en 1985(77) como una enfermedad de larga evolución, a veces más de 20 años, de etiología desconocida y gran tendencia a desarrollar áreas de carcinoma. Previamente a esta descripción se denominaba en la literatura como "papilomatosis oral florida"(78). Aguirre(79) propone un término nuevo que se ajusta más a la clínica de dicha lesión: leucoplasia proliferativa multifocal.

Presenta cuatro características: proliferación crónica, afectación de múltiples zonas, ser refractaria al tratamiento y tener un índice de transformación maligna extremadamente alto(80).

Las localizaciones afectadas con más frecuencia son la mucosa yugal(81,82), encía(55,83), cresta alveolar(82,84) y lengua(55,82).

Es una forma especialmente agresiva que comienza como una simple placa blanca de hiperqueratosis homogénea que, con el tiempo se extiende se hace multifocal, confluyente, exofítica y proliferativa. Las lesiones tienen crecimiento lento, son persistentes, irreversibles, y resistentes a todas las formas de tratamiento con gran tendencia a la recidiva. Sobre ellas pueden surgir lesiones eritematosas y verrucosas que pueden dar lugar a un carcinoma verrugoso, o un carcinoma de células escamosas(77).



Figura 1.5.-Leucoplasia verrucosa proliferativa

El diagnóstico a veces es difícil y generalmente retrospectivo. Cerero(85) ha propuesto una serie de criterios diagnósticos mayores y menores.

Criterios Mayores:

A.-Lesión leucoplásica con más de dos localizaciones diferentes, más frecuente en encía, procesos alveolares y paladar

B.-Existencia de área verrucosa

C.-Las lesiones se han extendido o aumentado durante la evolución de la enfermedad

D.-Recidiva en un área previamente tratada

E.-Histológicamente hiperqueratosis epitelial simple a hiperplasia verrucosa, carcinoma verrugoso o carcinoma de células escamosas tanto in situ como infiltrante.

Criterios Menores

a.-Lesión leucoplásica oral que ocupa al menos tres centímetros sumando todas las áreas.

b.-Que el paciente sea mujer.

c.-Que el paciente no sea fumador.

d.-La evolución de la enfermedad sea de más de 5 años

Esta autora para realizar el diagnóstico de LVP sugiere una de las dos combinaciones:

1.-Tres criterios mayores, siendo el criterio E uno de ellos

2.-Dos criterios mayores, incluyendo el criterio E entre ellos y dos criterios menores

I.5.-HISTOPATOLOGÍA

Desde el punto de vista histopatológico, los cambios epiteliales que podemos encontrar en la leucoplasia pueden variar desde la atrofia a la hiperplasia(13). Por lo general, muestran un epitelio con hiperortoqueratósis o paraqueratosis, con hiperplasia bien sea acantosis, aumento del número de células en el estracto espinoso, ó hiperplasia de células basales, con o sin inflamación y con una estratificación y maduración normal o con distintos grados de displasia(4,34).

El elemento más importante en el análisis histopatológico de la leucoplasia oral es determinar la existencia o no de displasia epitelial, y su grado. En una lesión individual cuanto más severa es la displasia mayor es la probabilidad de progresión a malignidad (13,36,86,87). Sin embargo, algunas leucoplasias con displasia oral pueden permanecer estables o incluso remitir, mientras otras lesiones sin displasia pueden transformarse en carcinoma(88,89).

La mayoría de las leucoplasias no muestran displasia y pertenecen a la categoría de hiperplasia. Las lesiones no homogéneas suelen asociarse a una mayor frecuencia de displasia(4).

I.5.1.-Concepto de displasia y clasificación

La displasia es un término de origen griego, dys-mal, plassein-forma o modelo,(90) empleado cuando se produce una alteración en la estratificación y maduración normal del epitelio que va acompañada de atipia citológica(4).

La clasificación más ampliamente aceptada es el sistema de clasificación de displasia epitelial oral reconocida por la OMS. Se han descrito otros sistemas de clasificación como la Clasificación de Ljubljana (SIL) y el sistema de neoplasia escamosa intraepitelial (SIN). (4)

Los criterios para establecer el grado de displasia se basan en la identificación de cambios citológicos y morfológicos (Tabla I.2), empezando desde el tercio basal del epitelio y ascendiendo hacia los tercios medio y

superior de los estratos epiteliales a medida que progresa el grado de displasia de leve a moderada y a severa respectivamente.(4). Sin embargo, predecir el comportamiento de la displasia es difícil, ya que la caracterización histológica no siempre proporciona información pronóstica, hay que tener en cuenta que leucoplasias que no presentan displasia también se malignizan(69,70)

Algunos estudios han mostrado presencia de displasia en más el 25% de las biopsias realizadas en leucoplasias(91).

En la tabla I.2 presentamos los rasgos que identifican la displasia epitelial, registrando las principales alteraciones(4) :

Tabla I.2.- Criterios usados para diagnóstico de displasia(4)

Arquitectura
Estratificación epitelial irregular
Pérdida de polaridad de las células basales
Crestas epiteliales anómalas, en forma de gota
Aumento del número de figuras mitóticas
Mitosis superficiales anormales
Queratinización prematura de células aisladas (disqueratosis)
Perlas de queratina dentro de las crestas
Cambios citológicos
Variación anormal en el tamaño nuclear (anisonucleosis)
Variación anormal en la forma nuclear (pleomorfismo nuclear)
Variación anormal en el tamaño celular (anisocitosis)
Variación anormal en la forma celular (pleomorfismo celular)
Aumento proporción núcleo/citoplasma
Aumento del tamaño nuclear
Figuras mitóticas atípicas
Aumento del número /tamaño de nucleolos

.

Al valorar desde el punto de vista histopatológico las lesiones de leucoplasia podemos encontrarnos con diversas situaciones en lo que respeta a la displasia(4):

a.-Ausencia de displasia epitelial: El epitelio está bien estructurado, puede presentar acantosis o hiperplasia de células basales. La arquitectura muestra estratificación regular sin atipia celular

b.-Displasia leve: en general, la alteración arquitectural se limita al tercio inferior del epitelio y se acompaña de atipia celular.

c.-Displasia Moderada: El criterio inicial para el reconocimiento de esta categoría, es la extensión de los cambios arquitecturales al tercio medio del epitelio. Es muy importante la valoración de la atipia celular en este caso, ya que la presencia de atipia citológica marcada podría indicar que la lesión debería ser clasificada como severa a pesar de no extenderse más allá del tercio medio. Y lesiones con hallazgos atípicos leves a pesar de extenderse al tercio medio podrían merecer clasificarse como displasia leve.

d.-Displasia Severa: la alteración afecta a más de dos tercios del epitelio, pero no a todo su espesor, asociado a atipias citológicas importantes.

e.-Carcinoma In situ: tiene lugar la transformación maligna pero no existe invasión. Está afectado todo o casi todo el espesor del epitelio acompañado por atipia citológica pronunciada. Es común, ver figuras mitóticas atípicas y mitosis anormales superficiales. Cuando se efectúa su diagnóstico, la lesión deja de considerarse ya una leucoplasia.

Es importante hacer el diagnóstico diferencial con el epitelio escamoso regenerativo o reparativo(4), en respuesta por ejemplo a un trauma, inflamación, irradiación o ulceración, que podría manifestar atipia citológica o cambio arquitectural. Las deficiencias nutricionales como el hierro, acido fólico o vitamina B12, pueden simular también displasia. Estas lesiones no se consideran precursoras y deberían distinguirse de las potencialmente malignas. Es muy importante en estos casos el conocimiento por parte del patólogo de la historia clínica del paciente.

La valoración de la displasia epitelial es un proceso subjetivo ya que todavía no existen parámetros cuantificables, los patólogos gradúan la displasia epitelial de acuerdo a la combinación de estos cambios arquitecturales y citológicos, pero se han descrito variaciones en la interpretación de la

presencia, grado y significado de los criterios individuales. Varios estudios han mostrado una gran variabilidad tanto intra como interobservador(92,93) en la valoración de la presencia o ausencia y el grado de displasia oral. También se ha encontrado una consistencia sustancial intra e interobservador y casi una perfecta conformidad en los patólogos que han sido formados en la misma institución(94).

Considerando este problema, se propuso la adaptación a un sistema binario, clasificando las lesiones de bajo riesgo y alto riesgo(88,95). El bajo riesgo englobaría las lesiones sin displasia y con displasia cuestionable o leve, y el grupo de alto riesgo las lesiones con displasia moderada o severa. De esta forma aumentó la probabilidad de acuerdo entre patólogos a la hora de la valoración y además ha demostrado ser un buen indicador pronóstico de la transformación maligna de las lesiones displásicas(95).

Algunos autores(96,97) han intentado, sin éxito establecer una gradación según la valoración de criterios individuales para evitar estas diferencias inter e intrapatólogo.

Por todo lo expuesto previamente es importante la evaluación de las biopsias estudiadas por el mismo patólogo, ya que el criterio que seguiremos para aplicar uno u otro tratamiento será la presencia de grado de displasia.

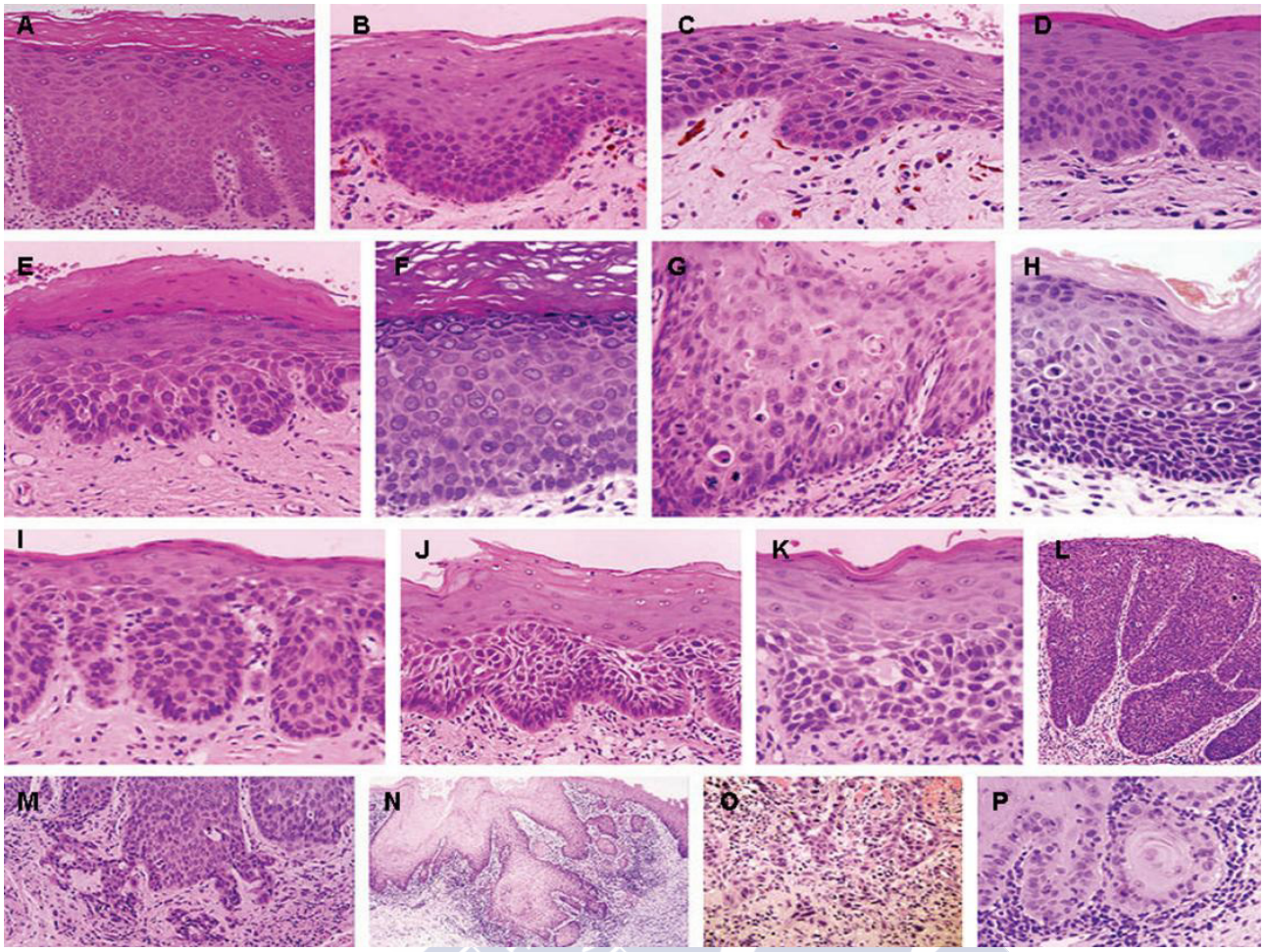


Figura 1.6.- Diferentes grados de displasia, desde hiperqueratosis simple (A) a carcinoma invasivo con islas epiteliales en el tejido conectivo (P)(88)

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

I.6.-DIAGNÓSTICO

Tenemos que tener en cuenta que la leucoplasia es un término puramente clínico, y su diagnóstico es por exclusión de otras enfermedades. Se debe hacer un diagnóstico provisional inicial basado en la clínica y posteriormente empleando las pruebas pertinentes llegar al diagnóstico definitivo(67). Es importante hacerlo de forma precoz para llevar a cabo un adecuado tratamiento y si fuera posible para prevenir la transformación maligna o al menos un diagnostico precoz de malignidad.

I.6.1.-Diagnóstico provisional

Ante una lesión blanca o predominantemente blanca que no podamos diagnosticar como otra enfermedad o afección de la mucosa oral podemos realizar un diagnóstico provisional de leucoplasia. En la tabla I.3 se detallan todas aquellas patologías blancas benignas de la mucosa oral más frecuentes y sus criterios diagnósticos principales para realizar el diagnóstico diferencial y emitir así un diagnóstico clínico provisional de leucoplasia oral.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Tabla I.3.-Diagnóstico diferencial de la leucoplasia oral(5).

Alteración	Hallazgos diagnósticos	Biopsia
Nevus blanco esponjoso	Aparece en edades tempranas de la vida, historia familiar, grandes áreas involucradas, mucosa genital puede estar afectada	No está indicada
Queratosis friccional	Historia de trauma, sobre todo en plano oclusal, causa etiológica aparente, reversible al eliminar la causa	Si persiste después de eliminar la causa sobre todo en fumadores
Morsicatio buccarum	Hábito de mordisqueo de labios, mejillas, lengua. Aspecto clínico de mancha irregular y desflecada	No indicada
Quemadura química	Historia conocida, zona de la lesión se corresponde al daño químico, es dolorosa, se resuelve rápidamente	No indicada
Candidiasis pseudomembranosa	Aspecto clínico de pseudomembranas blancas, se puede desprender con el raspado dejando una superficie eritematosa	Frotis para cultivo
Leucoedema	Bilateral en mucosa bucal, suele desaparecer la estirar la mucosa	No indicada
Liquen plano (en placa)	Buscar otras lesiones de liquen plano en la mucosa oral, prestar especial atención a las estrías de Wickham	Si indicada
Reacción liquenoide	Historia de uso de medicinas, cercanía a restauración de amalgama	Biopsia complicada liquen plano o reacción liquenoide
Lupus eritematoso discoide	Lesión cirscunscrita con eritema central, líneas blancas en sol radiante y eritema periférico	Si indicada y acompañada de inmunofluorescencia
Injerto de piel	Anamnesis, aspecto clínico	No indicado
Leucoplasia vellosa	Hiperqueratosis bilateral en lengua	Si. Histopatología característica con coilocitosis. Demostrar el VEB con inmunofluorescencia
Paladar del fumador	Fumador. Paladar blanco grisáceo	No indicada

I.6.2.-Diagnóstico definitivo

Una vez identificados y eliminados los posibles factores etiológicos, después de 2 a 4 semanas, llevaremos a cabo la realización de una biopsia para descartar histopatológicamente cualquier otra enfermedad o alteración específica(5), para excluir lesiones malignas como el carcinoma de células escamosas que puede aparecer como una lesión blanca, y para establecer la presencia o ausencia de displasia epitelial(98), de esta forma obtendremos el diagnóstico definitivo de leucoplasia.

La biopsia incisional es aceptada como una opción fiable para la valoración de la leucoplasia oral por la mayoría de los clínicos. Algunos autores dudan de la precisión de la biopsia incisional frente a la escisional(99) ya que puede infravalorarse el grado de displasia o la presencia de malignidad(100), sobre todo en las lesiones no homogéneas(101). Sin embargo, el hecho de practicar de forma rutinaria la biopsia escisional puede llevar a un tratamiento incompleto de las lesiones malignas y a un sobretratamiento de las benignas. El riesgo de infravaloración parece ser más alto en la forma verrucosa, seguida de la forma nodular y la moteada(101). Por lo tanto, cuando creamos conveniente en lesiones extensas y no homogéneas, para evitar estos problemas mencionados, se deberían tomar múltiples biopsias incisionales (101).

En base a esto, Van der Waal(2) ha propuesto el uso de distintos grados de certeza (factor-C) en el diagnóstico de la leucoplasia oral, basándose en el tipo de prueba realizada: exploración clínica, biopsia incisional o biopsia escisional (Tabla I.4).

I.7.-ESTADIAJE

En 1995 se propuso una clasificación y sistema de estadiaje de la leucoplasia similar a la clasificación TNM del Cáncer, para una mejor comunicación y entendimiento entre los investigadores

El sistema de clasificación original, se basaba en el tamaño de la leucoplasia (L), la localización (S), el aspecto clínico (C) y los hallazgos histológicos (P)(86). Con los años, se fue modificando, variando el significado y grados de los distintos parámetros a tener en cuenta(2,67,102). En el 2002 eliminan la consideración de C como aspecto clínico e introducen el factor de certeza-C en el diagnóstico. El sistema de estadiaje vigente en la actualidad se describe en las tablas I.4 y I.5

A la hora de asignar un valor L, si se trata de una leucoplasia múltiple sumaremos la extensión de todas las lesiones simples.

El valor de esta clasificación en aplicaciones prácticas en cuanto a pronóstico o a tratamiento todavía no ha sido estudiada extensamente.

Tabla I.4.-Factor de certeza (C) del diagnóstico de la leucoplasia oral(2)

C_1 Evidencia de una sola visita, aplicando la inspección y la palpación como único criterio (diagnóstico clínico provisional)
C_2 Evidencia obtenida por un resultado negativo de eliminación de posibles factores etiológicos, por ejemplo irritación mecánica, durante un periodo de seguimiento de 2 a 4 semanas o en ausencia de cualquier factor etiológico de sospecha (diagnóstico clínico definitivo)
C_3 Como C_2 pero complementado con una biopsia incisional (diagnóstico histopatológico provisional)
C_4 Evidencia después de la escisión y estudio anatomopatológico de todo el especímen (diagnóstico histopatológico definitivo)

Tabla I.5.-Clasificación y sistema de estadiaje de la leucoplasia oral(2)

L- extensión de leucoplasia
L_1 Tamaño de lesión única o múltiples leucoplasias juntas ≤2cm
L_2 Tamaño de lesión única o múltiples leucoplasias juntas de 2-4 cm
L_3 Tamaño de lesión única o múltiples leucoplasias juntas ≥4cm
Lx No especificado
P- hallazgos histológicos
P_0 No displasia epitelial (incluye displasia epitelial quizás leve o no displasia)
P_1 displasia leve o moderada
P_2 displasia epitelial severa
P_x no especificado en el informe
Sistema de estadiaje OLEP
Estadio I L_1 P_0
Estadio II L_2 P_0
Estadio III L_3 P_0 o L_1 L_2 P_1
Estadio IV L_3 P_1, cualquier L P_2
Reglas generales del sistema de estadiaje
1.- Si hay dudas con respecto a la categoría L que caso particular debería ser asignado, se debe escoger la categoría más baja. Esto también se verá reflejado en el grupo de estadiaje
2.- En caso de múltiples biopsias de una leucoplasia simple o biopsias tomadas de múltiples leucoplasias, se le asigna la puntuación patológica más alta
3.- Para informes la zona de la lesión será mencionada en base a la ICD-DA

I.8.-EVOLUCIÓN Y PRONÓSTICO

En cuanto a la evolución de la leucoplasia nos podemos encontrar con diversas situaciones clínicas, como ***curación*** cuando se produce la desaparición completa de la lesión, ***recurrencia o recidiva*** cuando tras la exéresis completa aparece de nuevo en la misma localización***, nueva enfermedad*** cuando en el curso evolutivo afecta a nuevas localizaciones o ***estable*** cuando no hay ningún cambio a lo largo del tiempo. Y finalmente consideramos la aparición de carcinoma como ***evento oncológico***(2,18,67,69,71,103). De hecho, algunos estudios muestran que entre un 16 y un 62% de los carcinomas orales están asociados con lesiones de leucoplasia o displasia en el momento del diagnóstico(12,36).

En la literatura encontramos descritos unos índices de transformación maligna del 0,13% al 36%(12,104-108). El índice de transformación maligna anual de la leucoplasia se encuentra aproximadamente en el 1% si tenemos en cuenta todos los tipos de leucoplasia conjuntamente(23). Petti(10) realizó una revisión sistemática y estima un índice de transformación maligna anual del 1,36% (95% IC 1,72-2,74). Sin embargo, no es posible predecir que pacientes van a desarrollar un carcinoma(18,109).

Existen una serie de factores reconocidos asociados a un riesgo aumentado de transformación maligna (tabla I.6). De estos factores de riesgo, la presencia de displasia epitelial (a menudo se correlaciona con la forma clínica no homogénea) es el indicador de potencial maligno más importante (23)

Tabla I.6.-Factores de riesgo de transformación maligna(23)

- **Sexo femenino**
- **Larga duración de la leucoplasia**
- **Leucoplasia en no fumadores**
- **Localización en lengua y suelo de boca**
- **Tamaño > 200mm^2**
- **Tipo no homogéneo**
- **Presencia de displasia epitelial**
- **ADN aneuploide**

Los factores de riesgo de malignización de leucoplasia incluyen los siguientes:

1.-Sexo: En general, es más frecuente encontrar leucoplasia en hombres que en mujeres, sin embargo, éstas presentan un mayor riesgo de malignización (23,110-112)

2.-Largo tiempo de evolución: la leucoplasia resistente al tratamiento y la que persiste durante largos periodos de tiempo tienen peor pronóstico que las recientes(23,110). El tiempo de progresión a carcinoma de la leucoplasia oral inexplicablemente varía de meses a años, aunque algunas leucoplasias tardan más de 30 años en transformarse, la media se encuentra entre los 5 y 8 años(113).

3.-Leucoplasia en no fumadores o leucoplasia idiopática(23,110): las leucoplasias en las que no existe un factor etiológico obvio tienen un riesgo significativamente mayor de transformación maligna comparándolas con aquellas asociadas a agentes causales como el tabaco(18,111).

4.-Localizaciones de mayor riesgo de malignización: como son el suelo de boca(23), zona ventrolateral de lengua(23,114) y paladar blando(110). Aunque varían según la zona geográfica y los factores etiológicos, así en India, la zona de mayor riesgo de malignización es la mucosa yugal y comisura labial(115), asociado al consumo de nuez de betel y tabaco mascado. Las leucoplasias de zona retrocomisural y cara dorsal de la lengua raramente evolucionan a carcinoma(2).

5.-Forma no homogénea(23,110): las leucoplasias no homogéneas tienen un color mixto blanco y rojo, y aspecto exofítico, papilar, o verrucoso. Respecto al tratamiento exhiben mayor índice de recurrencia y una mayor transformación a carcinoma de células escamosas, hasta 7 veces más que la forma homogénea.(69). La forma no homogénea presenta displasia con mayor frecuencia que las lesiones homogéneas(36).

6.-Presencia de displasia epitelial(23,110): la displasia epitelial es un marcador de potencial de malignización de la leucoplasia, y el riesgo de que una lesión progrese a carcinoma aumenta a medida que aumenta el grado de

displasia epitelial(36,91) probablemente por una mayor acumulación de alteraciones cromosómicas, genómicas y moleculares(88), se estima que el riesgo es el doble (2,3 veces) cuando se trata de leucoplasias con displasia moderada y severa. Alcanzando un porcentaje del 36% de transformación maligna en lesiones con displasia (12). Aunque hay autores(114) que no encuentran relación entre el grado de displasia y el índice de transformación maligna.

La presencia de displasia epitelial es uno de los predictores pronóstico de transformación maligna de las lesiones premalignas, precancerosas o potencialmente malignas, sin embargo, de forma ocasional lesiones sin displasia desarrollan cáncer y no todas las lesiones displásicas se transforman en malignas(116).

7.-Tamaño de lesión mayor de 200mm^2: Holmstrup(69) encontró que las lesiones mayores de 200mm^2 de extensión presentaban un riesgo de malignización 5,4 veces mayor que las lesiones de menor tamaño. La leucoplasia verrucosa proliferativa que se caracteriza por ser multifocal presenta un mayor poder de malignización cuando se compara con las lesiones simples que afectan a una localización(55).

8.-ADN aneuploide(23): en este sentido se ha estudiado la presencia de ADN aneuploide es más frecuente en las localizacoines denominadas de “alto riesgo” de tranformación comparadas con las de “bajo riesgo”(117).

De todos estos factores de riesgo, por el momento, el indicador más importante de potencial maligno, es la presencia de displasia, que suele corresponderse con la forma clínica no homogénea, el subtipo eritroleucoplásico(23). Por este motivo a los pacientes con lesiones de leucoplasia se les debería hacer un seguimiento a lo largo de toda su vida, observando si se produce algún cambio en la apariencia clínica de las lesiones que induzca a sospechar una posible malignización.

A pesar de los avances en el campo de la biología molecular, no existe todavía un único marcador o marcadores fiables para predecir la transformación maligna de la leucoplasia(118).

El desarrollo de un carcinoma es la complicación más temida, pero la lesión de leucoplasia puede permanecer sin cambios a lo largo de la vida del paciente, puede crecer y cubrir un área mayor de mucosa oral o puede incluso reducir su tamaño y hasta desaparecer completamente(18,69).

El índice de recurrencia publicado varía entre los diferentes estudios en rangos desde 7,7% a 38,1%(119). Hay que tener en cuenta que las lesiones recurrentes representan un grupo de alto riesgo de transformación maligna(66).

I.9.- TRATAMIENTO

Ya hace más de 45 años, Einhorn y Wersall(120) decían que “no hay evidencia de que la incidencia de carcinoma oral pueda disminuir por el tratamiento quirúrgico de la leucoplasia”. Afirmación que ha sido demostrada a lo largo de los años por diversos autores(66,69). Pero no por ello esta lesión debe dejar de tratarse.

A pesar del tratamiento instaurado las lesiones de leucoplasia oral tienden a recurrir, según Ishii los índices de recurrencia se encuentran entre el 7,7% y el 38,1%(119). Esto en parte puede ser debido a que la lesión no se haya extirpado en su totalidad(75). Zhang(121) demostró mediante un estudio de pérdida de heterocigosidad que las células de las lesiones recurrentes tenían casi idéntico perfil genético que las de la lesión original extirpada, incluso cuando progresaban a carcinoma in situ estaban presentes todavía clones de la lesión inicial.

La eliminación o reducción del tamaño de la lesión (extensión) no puede ser considerado un indicador aceptable de tratamiento eficaz ya que la recurrencia es un evento común y hay que considerar que las lesiones recurrentes representan un grupo de alto riesgo de transformación maligna(66).

El principal objetivo en el tratamiento de la leucoplasia debe ser por tanto, evitar la transformación maligna(66).

En la figura 1.6 se esquematiza el manejo de la leucoplasia recomendado por Van der Waal(23). Es indispensable una buena valoración histológica, no sólo para llevar a cabo un diagnóstico definitivo, sino también para realizar una adecuada gradación de la displasia si la hubiera y de esta forma instaurar el tratamiento que creamos más conveniente(110).

Independientemente de la displasia epitelial presente en la biopsia inicial, desde su ausencia hasta la displasia severa, y del tratamiento instaurado es importante que todos los pacientes con leucoplasia sean, regularmente controlados(114). Ya que se ha demostrado que lesiones que inicialmente no presentaban displasia desarrollan carcinoma con el paso de los años(111,114).

En ausencia de displasia, puede ser apropiado un seguimiento del paciente conjuntamente con la eliminación de hábitos asociados(40).

El manejo de la displasia oral está lejos de ser satisfactorio y no hay grandes ensayos que den una orientación sobre la forma más fiable de tratamiento, con respecto a la prevención del desarrollo de cáncer(116). No es posible ofrecer recomendaciones basadas en la evidencia para cualquier tipo de intervención ya sea quirúrgica, médica u otra(103).

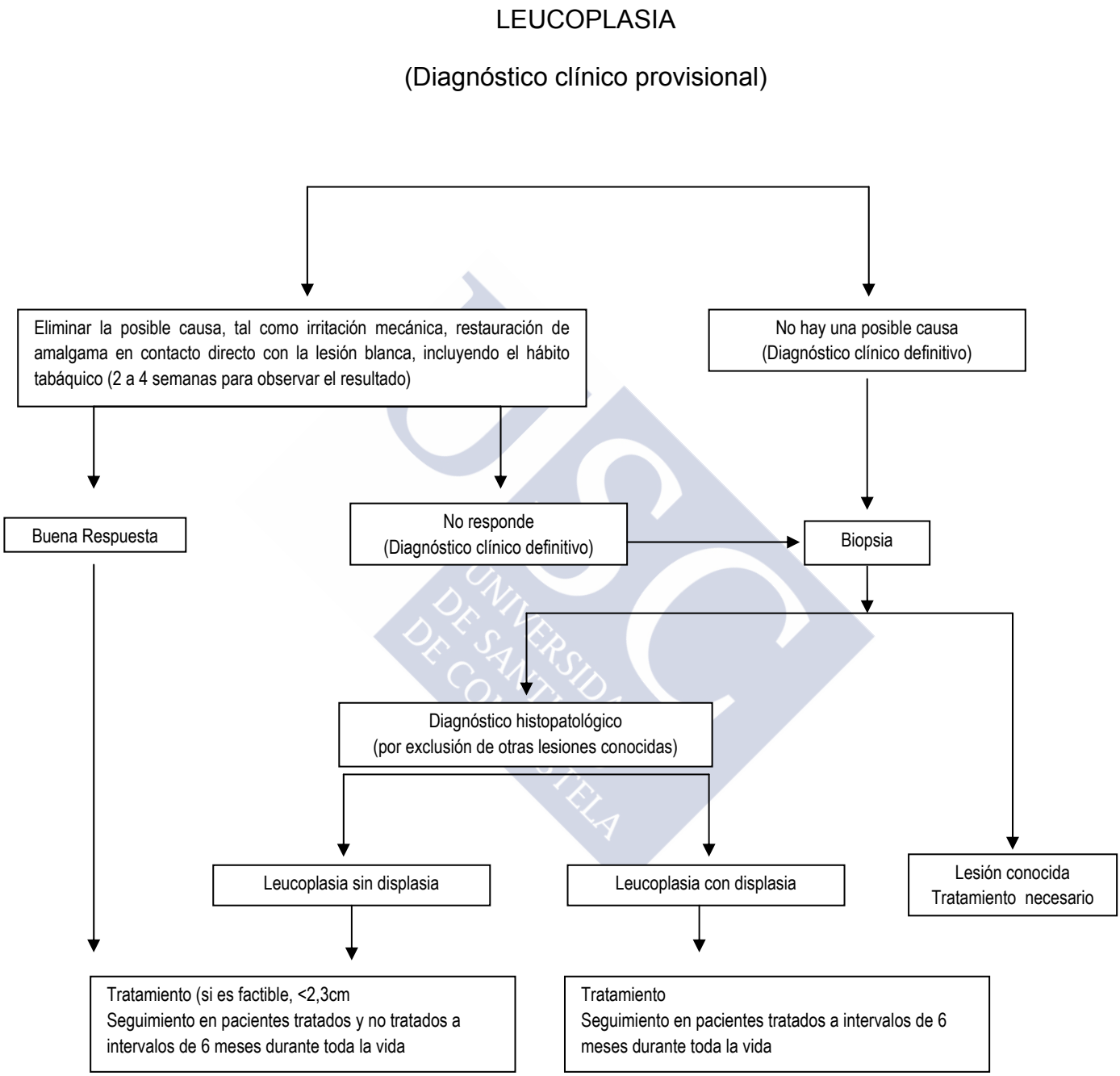
En la literatura encontramos descritos distintos tipos de tratamiento, como son la exéresis quirúrgica, el tratamiento con láser de CO2, crioterapia, uso de vitamina A tópica, retinoides, B-carotenos, bleomicina, té mixto, ketorolaco o terapia fotodinámica.

ELIMINACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO

Todos los autores recomiendan como primer paso en el tratamiento de la leucoplasia, cuando existen posibles factores etiológicos, la eliminación de los mismos(122) y un tiempo de espera arbitrario de 2 a 4 semanas para observar una posible regresión(2).

El tabaco, es el principal factor de riesgo de aparición de leucoplasia. El primer paso en el tratamiento de las leucoplasias asociadas al tabaco es

eliminarlo(23,122). De hecho algunos autores asocian la recurrencia en el tratamiento con la continuidad del hábito tabáquico(123).



.

Figura 1.7.- Recomendación de tratamiento de leucoplasia según Van der Wall(23)

SEGUIMIENTO

También existe la posibilidad de mantener la lesión bajo estricta vigilancia clínica e histológica, con visitas frecuentes y biopsias sin llevar a cabo tratamiento(40). En este caso, el objetivo principal es realizar un diagnóstico precoz de la aparición de un carcinoma si se produjera y control de hábitos.

Schepman(111), no encuentra diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la transformación maligna al comparar dos grupos de pacientes con leucoplasia, uno sometido a tratamiento quirúrgico y el otro sometido solamente a revisiones. Esto nos puede llevar a pensar que la historia natural de la leucoplasia podría ser independiente del tratamiento, y que aquellas lesiones destinadas a malignizarse lo harán con o sin intervención.

EXÉRESIS MEDIANTE CIRUGÍA CON BISTURÍ FRIO

La cirugía es el tratamiento de primera elección para la mayoría de los especialistas, sobretodo ante la presencia de displasia. A pesar de que la hipótesis que la eliminación mediante diferentes técnicas quirúrgicas como el bisturí frío, el láser y la criocirugía, puede prevenir la aparición de cáncer oral todavía permanece sin comprobar(66)

Si el tamaño de la lesión lo permite, la leucoplasia puede ser extirpada en su totalidad mediante el uso de bisturí frío. La ventaja de la escisión de la leucoplasia como forma de tratamiento es que permite hacer un diagnóstico histopatológico de toda la lesión(66). Algunos autores señalan una frecuencia alta de OSCC(124,125) en especímenes de lesiones que fueron extirpadas después de una biopsia incisional en la que no se detectó la presencia de OSCC en la región de interés.

Es importante, a la hora de hacer la exéresis de la lesión respetar un margen de seguridad, a pesar de que existen pocos estudios sobre este tema, se recomienda incluir de 5 a 8 mms de mucosa oral sana para asegurar una escisión completa de la lesión ya que el límite clínico no siempre coincide con el límite histológico(126).

Sin embargo, la recurrencia de la Leucoplasia oral después del tratamiento quirúrgico ha sido situado entre el 10% y el 35% de los casos(75,110,127)

LÁSER

Durante los últimos 30 años se le ha prestado especial importancia al tratamiento con láser.

Se ha descrito el uso de diferentes tipos de láseres, el empleado con más frecuencia es el de dióxido de carbono(125,128), aunque también se describe el uso del láser Nd:YAG(129), y KTP(119),empleando distintas técnicas para la eliminación de la lesión mediante vaporización o bien para llevar a cabo su extirpación.

Las principales ventajas de la terapia láser son los efectos hemostáticos y el potencial para limitar la contracción tisular y la cicatriz post-quirúrgica, por lo que permite el tratamiento de lesiones de amplias dimensiones.(66). Otros efectos del láser son la reducción del dolor post-operatorio y la inflamación cuando se compara con la cirugía convencional con bisturí frío(130), aunque en las leucoplasias más extensas de más de 2 cm se ha observado más dolor postoperatorio por lo que se recomienda llevar a cabo la vaporización en varias sesiones(128).

Sin embargo, el empleo del láser no es la panacea, y también registra recidivas(119). El tratamiento con láser tiene que ir precedido siempre de la toma de una muestra para estudio anatomopatológico por otros medios, la herida puede tardar en epitelizar más tiempo que tras la cirugía con bisturí frío y sutura convencional(119), y la curación se puede complicar con la aparición de pequeños granulomas(131).

Los índices publicados de curación después de la cirugía láser varian entre 33,9% a 82% y la recurrencia entre 7,7% y 66%(132).

CRIOTERAPIA

La crioterapia no parece presentar beneficios en los índices de recurrencia, ni en la transformación maligna de las lesiones de leucoplasia(66).

No es un tratamiento de elección en la extirpación quirúrgica de la leucoplasia, debido al riesgo de aparición de una cicatriz postoperatoria y contracción tisular que imposibilitan la observación de signos de recurrencia.

TERAPIA FOTODINAMICA

La terapia fotodinámica consiste en una reacción fotoquímica no térmica, que requiere la presencia simultánea de una droga fotosensibilizadora o fotosensibilizador, oxígeno y una luz visible(110). El fotosensibilizador más empleado es el ALA (ácido-5-aminolevulínico), en general se aplica por via intravenosa, excepto en el caso de lesiones superficiales que puede ser aplicado de forma tópica, como es el caso de la cavidad oral(133).

TRATAMIENTO MEDICO

En la literatura se ha descrito el tratamiento “no quirúrgico” de la leucoplasia. Los productos empleados incluyen el uso de vitamina A y retinoides locales y sistémicos, Beta caroteno sistémico, licopeno, quetorolaco, bleomicina(110),

Desafortunadamente los índices de recurrencia entre aquellos pacientes que responden al tratamiento es bastante alto (20-64%) así como la presencia de efectos adversos(66).

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

II. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

II.- JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

Como demuestra la literatura, la leucoplasia oral es una alteración potencialmente maligna(5) que puede derivar en cáncer oral, el único marcador de malignización reconocido por la mayoría de los autores es el grado de displasia(70,106,134), se observa como alguno de estos pacientes diagnosticados de leucoplasia oral evolucionan irreversiblemente desde un diagnóstico inicial anatomopatológico de ausencia de displasia o displasia leve , hacia displasia moderada, severa o carcinoma(135). De hecho hay estudios que muestran que entre un 16 y un 62% de los carcinomas orales están asociados con lesiones de leucoplasia o displasia en el momento del diagnóstico(12,36).

Los índices de supervivencia a 5 años del carcinoma oral de células escamosas (COCE), de algunas partes de la cavidad oral son menores al 9%, esto es debido a que se diagnostican de forma tardía, cuando ya se han producido metástasis (estadio IV de TNM). Sin embargo, cuando el COCE se detecta y se trata antes de la infiltración de los nódulos linfáticos, aumenta significativamente la supervivencia a los 5 años entre 66% y 85%(136).

Uno de los mayores problemas a los que tiene que enfrentarse el clínico es la incapacidad para determinar que lesión leucoplásica evolucionará hacia la malignidad(109). Ya que a día de hoy no existe ningún marcador que pueda determinar que leucoplasia es cancerizable y cual no(118).

Dada la relación existente entre las lesiones potencialmente malignas y el cáncer oral(56,137-139), nos planteamos el estudio de la leucoplasia oral, y su relación con la transformación maligna, la presencia de displasia oral y factores de riesgo como edad, sexo, forma clínica, localización, tamaño, tabaco y alcohol.

Por lo tanto nuestros objetivos con este trabajo son:

1.- Analizar las características clínico-patológicas de la leucoplasia de la cavidad oral en nuestra área geográfica

2.-Estudiar los factores de riesgo clínicos asociados con la presencia de displasia en las lesiones a estudio que puedan ser valorados en la clínica diaria.

3.-Valorar el grado de concordancia que muestran nuestros patólogos a la hora de realizar la gradación de la displasia.

4.-Determinar los factores relacionados con la transformación maligna en las leucoplasias.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

III. MATERIAL Y MÉTODO



USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

III.- MATERIAL Y MÉTODO

III.1.-SELECCIÓN DE PACIENTES

Para la selección de la muestra hemos hecho una revisión de la base de datos de pacientes que acudieron a la Clínica de la Unidad Docente de Medicina Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela desde Enero de 1995 a Junio de 2010. Estos pacientes acuden a la Unidad Docente de Medicina Oral remitidos por clínicas privadas y desde los centros de salud pertenecientes al SERGAS a través de un convenio con la Consellería de Sanidad.

De éstos seleccionamos los pacientes diagnosticados clínicamente de leucoplasia oral y que fueron confirmados histopatológicamente.

Se revisaron y se buscaron las imágenes clínicas correspondientes archivadas en la Unidad Docente de Medicina Oral para confirmar el diagnóstico clínico realizado en su momento, en los archivos de diapositivas de los años 1995 a 2006 y a partir de ese año en la base de datos de imágenes digitales.

Se examinaron los informes anatomopatológicos de los archivos en papel y de las historias clínicas de la Unidad Docente de Medicina Oral y se cotejaron con los recogidos en el Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS) empleando el programa informático Patwin (Novasoft, Málaga, España).

Posteriormente se recopiló el material histológico archivado en el Servicio de Anatomía Patológica del CHUS que constaba del cristal de diagnóstico inicial y el bloque de inclusión en parafina.

III.1.1.-Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión: Para el estudio clínico patológico incluimos a todos los pacientes con lesiones clínicas de leucoplasia que posteriormente se confirmaron mediante la toma de biopsia y de los cuales teníamos acceso a la historia clínica, a las fotografías clínicas y a las preparaciones histológicas.

Para la parte descriptiva de datos clínicos y su relación con la gradación de displasia incluimos todos los pacientes de leucoplasia con biopsia.

Exclusión: los criterios de exclusión fueron los siguientes:

1. Paciente sin diagnóstico histológico inicial
2. Paciente con un periodo de seguimiento de menos de 1 año desde que fue diagnosticada la leucoplasia
3. Paciente con apariencia clínica o hallazgos histológicos de enfermedad benigna blanca o predominantemente blanca tal como leucoedema, linea alba, lesiones potencialmente malignas como liquen plano, lupus eritematoso discoide etc..
4. Paciente sin imagen clínica de la lesión a estudio
5. Paciente sin material anatomopatológico que nos permitiera confirmar el diagnóstico inicial
6. Para el estudio de supervivenvia excluimos a aquellos pacientes que desarrollaron un carcinoma en los primeros 6 meses de seguimiento desde el diagnóstico de leucoplasia(140-143), consideramos que este tiempo de latencia excluye la posibilidad de presentaciones concomitantes.

III.2.-DATOS CLINICOS

Para la recolección de los datos se utilizó el protocolo recomendado por la Sociedad Española de Medicina Oral. (Anexo I)

Se recogió de la historia clínica de los pacientes datos demográficos como el sexo, edad en el momento del diagnóstico, factores de riesgo, tamaño de la lesión, localización y apariencia clínica. Así como el tratamiento que recibieron a lo largo del tiempo. En cuanto al seguimiento se recogieron datos en el momento en que se producían cambios clínicos (como forma de la lesión o tamaño o afectación de nuevas localizaciones) o cambios de factores de riesgo asociados

Si alguno de los datos no estaba recogido en la historia clínica se localizó al paciente telefónicamente para su evaluación o en caso de no poder acudir a la clínica preguntarle por sus hábitos. En caso de no establecer contacto se consideró como dato perdido.

III.2.1.-Factores de riesgo

III.2.1.1.-Tabaco

En cuanto al consumo de tabaco se recogieron los datos que figuraban en la historia en el caso de los pacientes fumadores se registró el consumo de tabaco en unidades de cigarrillos diarios y los años de hábito.

En el caso de los exfumadores se anotó el tiempo desde que dejó de fumar en meses, las unidades consumidas durante su etapa como fumador y los años de consumo.

Siguiendo a Jaber(87) decidimos agrupar a los pacientes en fumadores y no fumadores para lo que consideramos los siguientes criterios:

- Fumador: aquel paciente que fuma de forma regular en el momento del diagnóstico diariamente o algun día. Y aquel que ha fumado en algún momento de forma regular y lleva menos de 10 años sin fumar.

-No fumador: aquel paciente que no ha fumado nunca y aquel que ha fumado a lo largo de su vida y que lleva sin fumar más de 10 años

III.2.1.2 -Alcohol

Se recogieron los datos de alcohol en bebidas consumidas en el momento del diagnóstico.

Para el estudio de valoración de displasia y supervivencia se consideraron dos grupos. Bebedor y no bebedor.

III.2.2.-Características clínicas de la lesión

En este apartado empleamos los datos recogidos en las historias y clasificamos de nuevo todas las lesiones en lo que respecta al aspecto clínico a través de las imágenes archivadas, llegando a un consenso entre dos clínicos.

III.2.2.1.- Aspecto clínico

La apariencia clínica de la leucoplasia se clasificó según los últimos parámetros publicados del grupo de trabajo de la OMS(5) .

Se dividió en dos grandes grupos: forma homogénea y no homogénea. En esta última (no homogénea) se incluyen 4 variedades:

-Moteada o eritroleucoplasia: mixta, blanca y roja pero en la que es predominante el carácter blanco.

-Nodular: pequeños crecimientos polipoides, redondos rojos o excrecencias blancas

-Verrucosa: con una superficie corrugada o arrugada

-Leucoplasia verrucosa proliferativa

Diferenciamos además las lesiones que presentan placas mixtas blancas con un mayor componente rojo y las denominamos "eritroleucoplasia" que de acuerdo a la recomendación del grupo de expertos debería ser considerada por su mayor riesgo de transformación maligna(23).

La leucoplasia puede tomar distinta forma clínica en el transcurso de la enfermedad, una leucoplasia homogénea puede transformarse en no homogénea al igual que una leucoplasia inicialmente no homogénea puede adquirir una forma homogénea. Son estos cambios de forma, de color o de consistencia, los que nos hacen considerar la opción de tomar una biopsia en la zona que ha cambiado ya que pueden indicar alteraciones histopatológicas relativas a posible malignización(23). Por lo tanto, una leucoplasia que desarrolla zonas moteadas nodulares o verrucosas será considerada como no homogénea en lo que respecta a su clasificación a pesar de que haya otras zonas que sigan siendo homogéneas.

Cuando la leucoplasia es multifocal el aspecto clínico considerado es el de la zona no homogénea si la hubiera, tanto en la biopsia inicial como durante el seguimiento.

Por motivos estadísticos, se adopta en el estudio de relación de factores de riesgo de displasia y de supervivencia sólo el grupo homogéneo y no homogéneo.

III.2.2.2.- Tamaño de la lesión

Recogimos el tamaño de la lesión en centímetros siguiendo las recomendaciones realizadas en la literatura(67) midiendo el eje mayor de la lesión en el caso de pacientes con una única localización. Cuando estaban afectadas varias localizaciones se considera la suma del tamaño de cada una de las lesiones.

En lo relativo al tamaño adoptamos la siguiente clasificación:

L1.-<2cm
L2.-2-4 cm
L3.- >4 cm

Lx.- No especificado

Para el estudio de supervivencia, y de valoración de riesgo, agrupamos las lesiones en menores de 2 cm y mayores de 2cm.

III.2.2.3.- Localización

Debido al diferente comportamiento de las lesiones únicas o múltiples(71) y a la dificultad en el manejo de los datos consideramos el número de zonas de la mucosa oral afectadas, recogiendo específicamente la localización en el caso de la zona biopsiada.

Para recoger las localizaciones biopsiadas, registramos cada una de las localizaciones afectadas, lo que nos permitió hacer un mejor seguimiento de las lesiones. A continuación, una vez revisadas todas las historias, seguimos las indicaciones de la última reunión de expertos en 2005(5) y recogimos las localizaciones recomendadas por la OMS descritas en la ICD-10(144), en ella cuando hacen referencia a las neopasias malignas de labio, cavidad oral y faringe diferencian la sublocalización dentro de la cavidad oral, para la estadística descriptiva decidimos emplear dichas sublocalizaciones. De esta forma agrupamos las afectaciones como indica la siguiente tabla III.1.

En la primera columna aparece el número que otorgamos a cada localización. En la segunda la localización tal como aparece en las historias clínicas. La tercera columna referimos la numeración otorgada a dicha sub-localización por la OMS y en la cuarta columna el grupo general al que pertenece, donde C00 es “labio”; C02 es “lengua”; C03 es “encía”; C04 es “suelo de boca”; C05 es “paladar” y C06 es “partes inespecíficas”

Esto nos permitió hacer un mejor seguimiento de las zonas afectadas y de las biopsias relacionadas.

Por último, para llevar a cabo el estudio de supervivencia y valoración de riesgo de displasia agrupamos las localizaciones en 2 grupos aquel en el que estaba afectada cualquier zona de la lengua y suelo de boca y otro grupo en el que se incluían el resto de las lesiones.

Tabla III.1.-Clasificación de las localizaciones recogidas

	Localización	ICD-10	
0	CARA DORSAL DE LENGUA	C02.0	C02
1	CARA VENTRAL DE LENGUA	C02.2	
2	BORDE LATERAL IZQUIERDO	C02.1	
3	BORDE LATERAL DERECHO	C02.1	
4	SUELO DE BOCA	C04.0;1	C04
5	PALADAR DURO	C05.0	C05
6	PALADAR BLANDO	C05.1	
7	MUCOSA YUGAL DERECHA	C06.0	C06
8	MUCOSA YUGAL IZQUIERDA	C06.0	
9	ZONA RETROCOMISURAL	C06.0	
10	FONDO DE VESTIBULO	C06.1	
14	ZONA RETROMOLAR	C06.2	
11	LABIO INFERIOR	C00.1	C00
12	REBORDE ALVEOLAR	C03	C03
13	ENCIA	C03.0/1	

III.2.2.4.- Número de localizaciones afectadas

En cada paciente se recogió el número de localizaciones afectadas. Dividiendo así la lesión en única o múltiple. Durante el análisis de los datos en sujetos con lesiones múltiples consideramos la primera lesión diagnosticada como lesión inicial.

III.2.2.5.- Tipo de biopsia y número

Todos los pacientes fueron sometidos a biopsia para confirmar la presencia o no de displasia y así clasificarlos histológicamente. Se recogió en todos los casos el tipo de biopsia realizada, incisional o escisional.

La zona de toma de la biopsia depende del juicio clínico y de otros hallazgos como pueden ser la presencia de componente rojo o verrucoso, ulceración o induración a la palpación y la presencia de síntomas. Cuando

aparecen estas alteraciones clínicas, en la mayoría de los casos, conllevan un cambio en la clasificación morfológica de la leucoplasia.

Cuando se consideró necesario en función de la extensión de la lesión y el aspecto clínico se tomaron múltiples biopsias incisionales (101)

Si cualquier paciente tenía biopsias secuenciales que respondían a cambios en el aspecto clínico de la lesión durante el periodo de seguimiento, estos fueron recogidos y relacionados con el registro de la biopsia inicial.

III.2.3.-Evolución de las lesiones

En cuanto al seguimiento de los pacientes, la forma habitual de trabajo en la Clínica de la Unidad Docente de Medicina Oral es llevar a cabo revisiones cada 6 meses, en función de cada paciente y del tratamiento realizado.

En aquellos pacientes que no presentan displasia o es leve o moderada se llevan a cabo revisiones cada 6 meses, en función del tratamiento aplicado aunque mientras dura éste se acortan las visitas. Cuando la displasia es severa y se confirma histológicamente la resección total de la lesión sin afectación de los márgenes se llevan a cabo revisiones también trimestrales, si los márgenes están afectados se remiten al Servicio de Cirugía Maxilofacial del CHUS para la extirpación completa de la lesión. Este último procedimiento se lleva a cabo siempre que el resultado anatomopatológico sea de cualquier tipo de carcinoma.

Durante el control evolutivo se valoró el aspecto clínico de la lesión, el numero de localizaciones afectadas,y el tamaño de la leucoplasia así como el cambio en los hábitos tabáquico y alcohólico.

En nuestro estudio, *el periodo de latencia* se define como el intervalo desde el diagnostico hasta desarrollo de cáncer. El *periodo de seguimiento* se define como el intervalo entre la primera visita a nuestra consulta y la última revisión (para observaciones censuradas) o hasta el desarrollo del cáncer (para observaciones no censuradas).

Se recoge la evolución de la lesión como ***curación*** cuando se produce la desaparición completa de la lesión, ***recurrencia*** cuando tras la exéresis completa aparece de nuevo en la misma localización***, nueva enfermedad*** cuando en el curso evolutivo afecta a nuevas localizaciones o ***estable*** cuando se ha decidido no realizar tratamiento y llevar a cabo el control visual de las lesiones y no hay ningún cambio a lo largo del tiempo. Y finalmente consideramos la aparición de carcinoma como ***evento oncológico***. (2,67,71,103)

En la recogida de los datos se refleja al menos una visita anual durante el periodo de seguimiento de estos pacientes a no ser que se produjeran cambios en cualquiera de las variables estudiadas porque entonces se registraba una visita con estos cambios.

Se recogió el tamaño de la lesión en el momento del diagnóstico y su evolución y tratamiento así como la existencia o no de recidiva, considerando como tal aquella que aparecía en la misma localización(67).

III.3.-ESTUDIO HISTOLOGICO CONVENCIONAL

Todos los pacientes incluidos fueron sometidos a biopsia. El tejido biopsiado fue fijado en formol al 10% y posteriormente incluido en parafina y procesado para el estudio histológico de rutina mediante la técnica de hematoxilina-eosina. Estos cristales de diagnóstico inicial así como los bloques de material incluido en parafina fueron archivados en el Servicio de Anatomía Patológica del CHUS.

Una vez recogido el material todos los casos fueron valorados de nuevo por el mismo patólogo. En aquellos casos en los que no se encontró el cristal de diagnóstico inicial la valoración se realizó sobre un nuevo corte teñido con la técnica de hematoxilina-eosina.

Realizamos un estudio para calibrar al patólogo que informa los casos, estudiamos el grado de concordancia del patólogo consigo mismo y con otro patólogo que suele informar los casos conjuntamente. Utilizando el índice

kappa de Cohen (K). La displasia epitelial fue clasificada de acuerdo a los criterios de la OMS, descritos en la introducción(4) en 5 grupos, ausencia de displasia, leve, moderada, severa y carcinoma.

Para los pacientes que tenían múltiples biopsias en el momento inicial, se eligió la biopsia con el grado más alto de displasia para ser considerada como basal(142).

Para el estudio de supervivencia decidimos hacer dos grupos pacientes con lesiones sin displasia y pacientes que presentan cualquier tipo de displasia, incluyendo aquí leve, moderada y severa(69).

Fue el sistema binario propuesto por un grupo de trabajo de la WHO(88,95) incluye; el bajo riesgo: ausente,cuestionable y leve y el alto riesgo: moderada y severa y carcinoma. el que decidimos emplear a la hora de realizar el estudio de los factores de riesgo asociados al grado de displasia

III.4.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos recogidos fueron introducidos en una base de datos utilizando el sowftware Microsoft Office Excel 2007 para Windows. Posteriormente los datos fueron tabulados y analizados estadísticamente mediante el Sowftware SPSS para Windows versión 20.0 (SPSS Inc., Chicago, ILL, EEUU) y R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente con posterioridad.

Realizamos una estadística descriptiva, analizando media, valores mínimos, máximos, desviación estándar en las variables cuantitativas. En las variables cualitativas analizamos el número y porcentaje. Para comparación de medias de edad utilizamos la t-de student o ANOVA de un factor.

Para evaluar el grado de concordancia se ha utilizado el índice Kappa de Cohen (K). Dicho índice proporciona una medida del grado de acuerdo

existente entre dos observadores o entre el propio observador en dos momentos distintos en el tiempo, al evaluar una serie de sujetos u objetos.

Se presentan tablas de contingencia para los datos más relevantes al inicio del estudio y se ha evaluado la relación entre los factores de riesgo de malignización y el diagnóstico histopatológico con test Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher cuando la frecuencia para una variable determinada era menos de 5, para valorar si existían diferencias significativas. También se ha realizado un análisis de regresión logística para valorar el efecto del riesgo.

Se ha hecho un análisis de supervivencia utilizando el método de Kaplan-Meier y el test log-rank para comprobar si las curvas de supervivencia generadas son significativamente distintas, en estas curvas no hay intervalos y tiene una disminución sólo cuando hay un paciente que sufre el evento. El tiempo de estudio considerado es desde la realización de la primera biopsia hasta la aparición de una transformación maligna (observación no censurada) o hasta el fin de seguimiento del paciente (observación censurada); entendiendo como transformación maligna la aparición de un carcinoma ya sea "in situ", verrucoso o epidermoide.

Todos los p-valores (P) son bilaterales, y se consideran p-valores de 0.05 o menos como significativos

III.5.-ASPECTOS ETICOS

El presente estudio ha recibido el visto bueno del del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia.

Los pacientes firmaron un consentimiento informado (anexo II) en donde se le explica la naturaleza de la prueba a realizar y su consentimiento para la participación en el estudio.

En todo caso, no se recogieron datos que permitieran la identificación de las personas participantes garantizando su confidencialidad.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

IV. RESULTADOS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

IV.- RESULTADOS

IV.1.-SELECCIÓN DE PACIENTES

Para la selección de pacientes revisamos la base de datos de la Clínica de la Unidad Docente de Medicina Oral desde Enero de 1995 hasta Junio de 2010, que consta de un total de 5864 pacientes. Hicimos un primer filtrado por motivo de consulta seleccionando las historias clínicas de aquellos pacientes que acudieron por presentar una mancha blanca que no se desprendía al raspado, reduciendo el número de pacientes a 403.

Llevamos a cabo la revisión de las historias clínicas de estos 403 pacientes. De estos un total de 157 resultaron ser leucoplasias clínicas. De éstas 106 fueron confirmadas mediante estudio anatomopatológico. De los 403 pacientes encontramos 246 hiperqueratosis traumáticas o friccionales que no fueron consideradas como leucoplasias.

De los 106 pacientes de leucoplasia descartamos 16 pacientes 5 porque no se pudo localizar al menos el cristal para confirmar el diagnóstico y reevaluar el grado de displasia, y 11 porque no se encontraron las imágenes clínicas o bien faltaban datos en la historia y no pudieron ser recuperados.

De esta forma la muestra seleccionada consta de 90 pacientes, a los que se les realizó un total de 194 biopsias.

IV.2.-DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Se recogieron los datos clínicos de los 90 pacientes incluídos en el estudio. Para ello empleamos el protocolo de "Leucoplasia Oral" elaborado por la Sociedad Española de Medicina Oral. (Anexo I)

Los datos de las biopsias practicadas se recogieron en un documento clasificándolos por localización y fecha. (Anexo III)

IV.2.1.-EDAD

La media de edad de presentación de leucoplasia en el momento del diagnóstico fue de 58,86 años (IC95%: 56,03-61,68). Con un valor mínimo de 22 años y máximo de 92. Podemos ver en la Figura 4.1 la distribución de casos según percentiles de edad.

Vemos la distribución por edad y sexo, aparecen descritas en la tabla IV.1.

Tabla IV.1.-Distribución (%) del número de individuos por grupos de edad y sexo.

	Nº Pacientes	Edad (en años)			
		≤49	50-59	60-69	≥70
Hombres	46 (51,1)	12 (26,1)	11 (23,9)	14 (30,4)	9 (19,6)
Mujeres	44 (48,3)	7 (15,9)	16 (36,4)	10 (22,7)	11 (25)
Total	90	19 (21,1)	27 (30)	24 (26,7)	20 (22,2)

IV.2.2.-SEXO

En cuanto al sexo, de los 90 pacientes, 46 (51,1%) eran hombres y 44 (48,9%) mujeres.

La media de edad para los hombres fue 57,67 ± 13.46 con un mínimo de 22 años y máximo de 85. Mientras que para las mujeres la edad media fue de 60,09± 13,57 con un rango entre 31 años y 92.

Al realizar una prueba de t-student de comparación de medias para el sexo y la edad observamos un valor de P=0,399, por lo tanto no existen diferencias entre hombres y mujeres en cuanto a la edad de aparición.

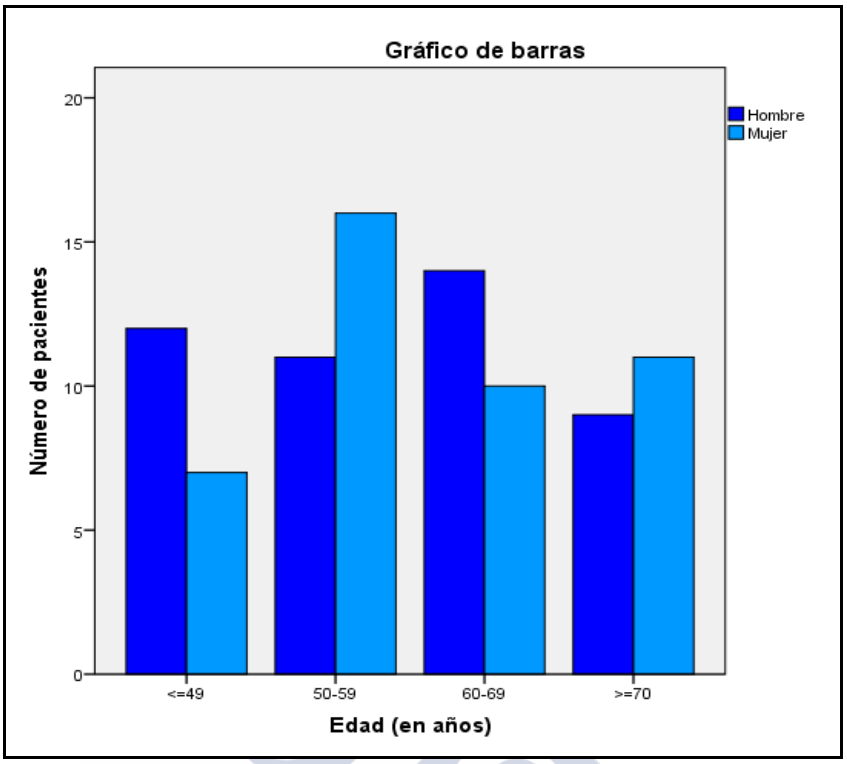


Figura 4.1.-Distribución de los 90 pacientes por sexo y percentiles de edad.

IV.2.3 -TABACO

En cuanto al hábito tabáquico, en los 90 pacientes, aparecía recogida en la historia clínica su condición frente a este hábito.

De los 90, 42 pacientes reconocían no haber fumado nunca (46,7%), 36 eran fumadores en el momento del diagnóstico (40%) y 12 eran exfumadores(13,3%). Dentro de los pacientes exfumadores, consideramos como no fumador aquel que llevaba sin fumar 10 o más años (8 pacientes), e incluimos dentro de los fumadores a los exfumadores recientes, de menos de 10 años. De estos últimos, uno había dejado de fumar hacía 96 meses (8 años), otro hace 48 meses (4 años) y 2 hacía 24 meses (2 años).

De esta forma el grupo de pacientes fumadores queda compuesto por 40 individuos (44.4%) y el grupo de pacientes no fumador por 50 (55,6%)

En relación al sexo y al tabaco (figura.4.2), vemos que en lo que respecta a los hombres, fuman el 63% (29) frente al 37% (17) que no lo hacen. Mientras

que las mujeres son no fumadoras el 75% (33) frente a un 25% (11) que sí lo es. Los datos aparecen reflejados también en la tabla IV.2.

Presentan mayor frecuencia de hábito tabáquico los hombres que las mujeres y esta diferencia es estadísticamente significativa con p<0,01

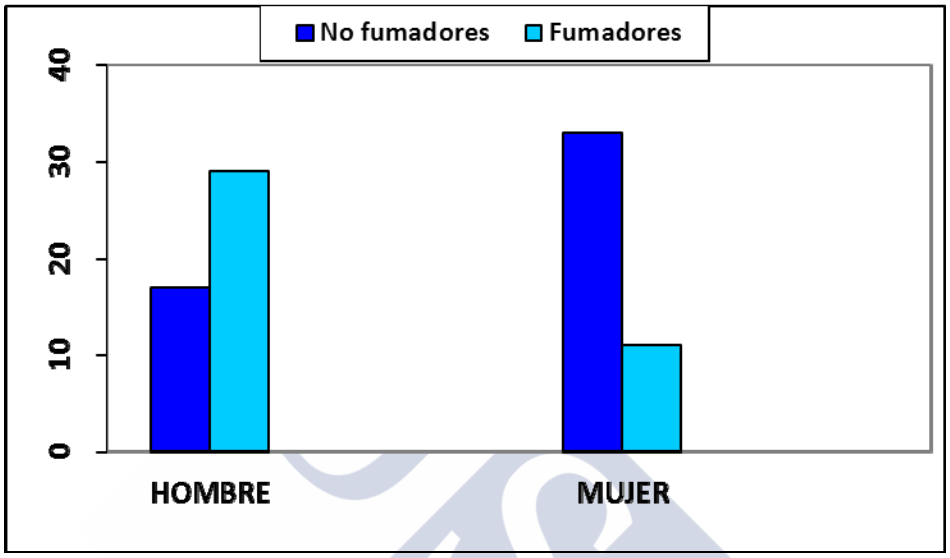


Figura 4.2.-Habito tabáquico y sexo

Si observamos el consumo de tabaco por sexo y edad (fig. 4.3) vemos la distribución según percentil de edad y sexo, podemos observar que no hay mujeres fumadoras por encima de los 60 años y todos los hombres menores de 50 son fumadores.

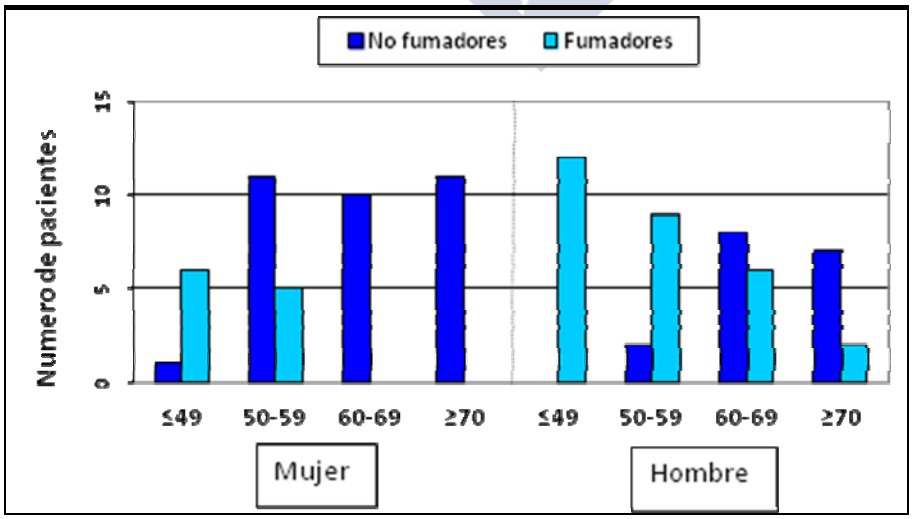


Figura 4.3.-Sexo por grupo de edad frente a condición hábito tabáquico

GRUPO FUMADORES

El grupo de fumadores está compuesto por 40 pacientes, 29 hombres (72,5%) y 11 mujeres (27,5%). La edad media de este grupo es de 49.58 ±11.67, valor mínimo de 22 y máximo de 77 años.

De los 40 pacientes que componen este grupo se desconocen los años como fumador en 11 y en todos aparece recogido el número de cigarrillos consumidos diariamente.

El tiempo medio de consumo fue de 29,97 años ±11.75 para los 29 pacientes en los que aparece recogido este dato. Con valores mínimos de 3 y máximos de 63 años.

La cantidad de tabaco consumida de media, en los 40 pacientes de los que disponemos de esta información, fue de 24,63±16,41 unidades. Con valores de consumo mínimo de 2 unidades (en este caso el paciente fumaba tabaco en pipa no cigarrillos) y de consumo máximo 100 cigarrillos.

De los pacientes fumadores 10 (25%) pertenecen al grupo de aquellos que fumaban menos de 20 cigarrillos diarios. De estos el 50% son mujeres. Los 30 restantes (75%) pertenecen al grupo de los “grandes fumadores”, los que fuman 20 o más cigarrillos al día, y aunque en este grupo el 80% son hombres no existe relación estadísticamente significativa entre la cantidad de tabaco consumida y el sexo.

GRUPO NO FUMADORES

El grupo de no fumadores está compuesto por 50 pacientes, 17 hombres (34%) y 33 mujeres (66%). La edad media de este grupo es de 66,28 ± 9,78, valor mínimo de 46 y máximo de 92.

Cuando comparamos la media de edad de los dos grupos observamos que la relación es estadísticamente significativa, los fumadores son más jóvenes que los no fumadores. La diferencia entre ambos grupos es de 16,7 años (IC95%(12.21-21.19)) y el valor P<0,001

IV.2.4.-ALCOHOL

Recogimos el hábito alcohólico en unidades consumidas a la semana. En 7 pacientes (7,8%) no aparecía reflejado en la historia el consumo de alcohol. De los pacientes en los que sí aparecía reflejado el consumo de alcohol, 54 (65,1%) referían no beber. De estos 34 (63%) eran mujeres y 20 (37%) hombres. Los 29 (34,9%) restantes consumían habitualmente alcohol, 20 hombres (69%) y 9 mujeres (31%).

La edad media de los abstemios es de 60,65 (IC95%:56,82-64,47) y de 56,41(IC95%:51,72-61,11) en el grupo de consumidores habituales de alcohol. No encontramos diferencias con respecto a la edad entre los dos grupos.

En la tabla IV.2 presentamos los datos referentes al consumo en unidades de alcohol por sexo. En donde agrupamos los pacientes por consumo de <2 unidades a la semana (en este grupo se incluyen los abstemios) y >=2 unidades a la semana.

Podemos comprobar que los hombres consumen alcohol con más frecuencia que las mujeres y esta relación es estadísticamente significativa con p<0,01.

Tabla IV. 2.- Distribución (%) de los hábitos de tabaco y alcohol (en U/semana) de los 90 pacientes por sexo.

	Nº Pacientes	Hábitos				
		Tabaco		Alcohol		
		No fumador	Fumador	Desconocido	<2 U/semana	≥2 U/semana
Hombres	46 (51,1)	17 (37)	29 (63)	6 (13)	26 (56,5)	14 (30,4)
Mujeres	44 (48,9)	33 (75)	11 (25)	1 (2,3)	42 (95,5)	1 (2,3)
Total	90	50 (55,6)	40 (44,4)	7 (7,8)	68 (75,6)	15 (16,7)

IV.2.5.-ASPECTO CLÍNICO DE LA LESIÓN EN LA VISITA INICIAL

En el momento del diagnóstico, 37 lesiones (41.1%) tenían aspecto de leucoplasia homogénea y 53 no homogénea (58.9%).

De las 53 leucoplasias no homogéneas, 26 eran nodulares (28,9%), 9 (10%) moteadas, 6 (6,7%) de estas podríamos considerarlas eritroleucoplasias por su aspecto más eritematosos, y 18 (20%) presentaban aspecto verrucoso en la visita inicial (Figura 4.4).

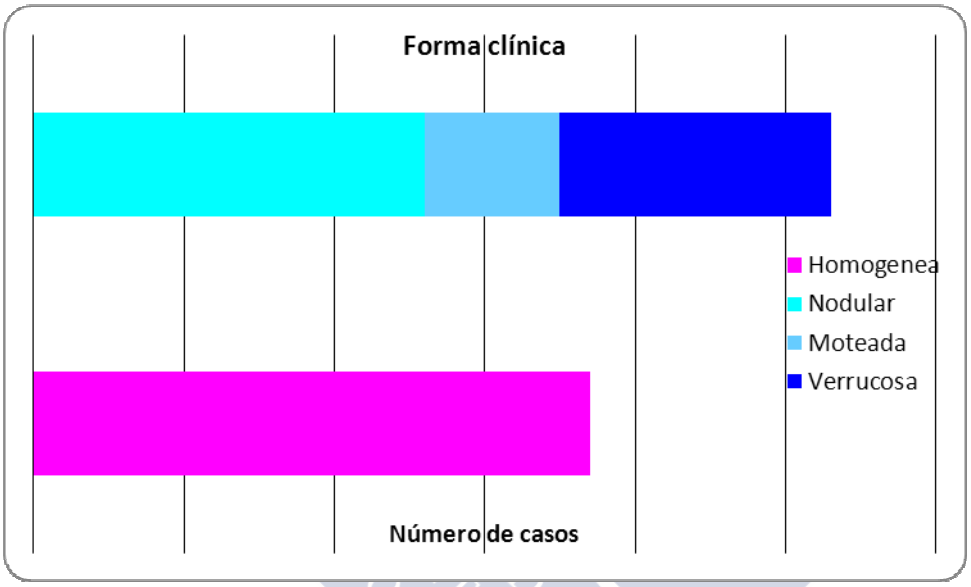


Figura 4.4.-Forma clínica en los 90 pacientes

Consideramos la evaluación de los grupos homogéneo/no homogéneo a la hora de realizar el estudio estadístico.

Cuando observamos la relación entre el aspecto clínico de la lesión y la edad, vemos que la edad media de aparición de la forma homogénea es de 56,95±13,35 con valores mínimo de 31 y máximo de 77, y en la forma no homogénea es de 60,19 ±13,56, el más joven de 22 años y el mayor de 92. No encontramos diferencias al comparar las medias de edad. Podemos ver la distribución de la forma clínica de las lesiones por sexo y percentiles de edad en la Figura 4.5.

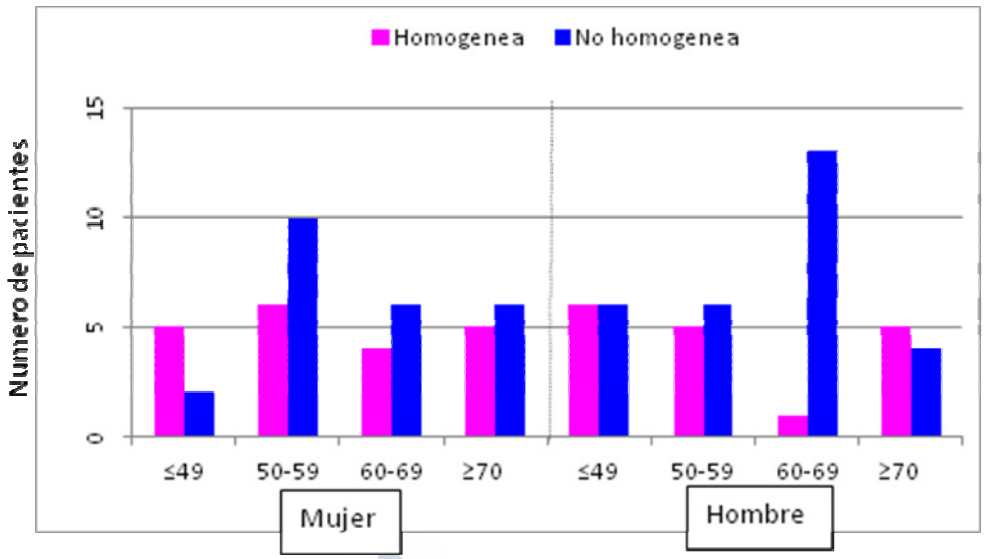


Figura 4.5.-Distribución de forma clínica por sexo y grupo de edad

Cuando las distribuimos por grupos de edad (tabla IV.3) la forma homogénea es la más común en los menores de 60 y la no homogénea entre los mayores de 60. Sin embargo la relación no es estadísticamente significativa.

Tabla IV.3.-Distribución (%) de la forma clínica y grupos de edad

	Nº Pacientes	Edad 2 categorías	
		<60	>=60
Homogénea	37 (41,1%)	22(59,5%)	15(40,5%)
No homogénea	53 (58,9%)	24(45,3%)	29(54,7%)
Total	90	46(51,1%)	44(48,9%)

Presentamos en la tabla IV.4 la distribución de la forma clínica en función del sexo, pudiendo observar que es similar entre ambos grupos. El grupo de la forma homogénea está constituido por un 45,9% de hombres y 54,1% de mujeres. En el grupo de la forma no homogénea un 54,7% son hombres y un 45,3% son mujeres.

Tabla IV.4.-Distribución (%) de la forma clínica de los 90 pacientes por sexo.

	Nº Pacientes	**Forma clínica**	
		Homogénea	**No homogénea**
Hombres	46 (51,1)	17 (37)	29 (63)
Mujeres	44 (48,3)	20 (45,5)	24 (54,5)
Total	90	37 (41,1)	53 (58,9)

En lo que respecta al tabaco, la distribución de la muestra se presenta en la tabla IV.5. Podemos observar una mayor frecuencia de forma no homogénea entre los pacientes no fumadores pero no hay relación estadísticamente significativa.

Tabla IV.5.-Distribución (%) de la forma clínica y hábito tabáquico

	Nº Pacientes	Hábito Tabáquico	
		No fumador	Fumador
Homogénea	37 (41,1%)	17 (45,9%)	20 (54,1%)
No homogénea	53 (58,9%)	33 (62,3%)	20 (37,7%)
Total	90	50 (55,6%)	40(44,4%)

Tampoco encontramos relación entre el consumo de alcohol y la forma clínica (tabla IV.6) para aquellos pacientes de los que disponemos de datos.

Tabla IV.6.-Distribución (%) de la forma clínica y hábito alcohólico

	Nº Pacientes	Hábito Alcohólico	
		No Bebe	Bebe
Homogénea	34 (41,%)	22 (64,7%)	12 (35,3%)
No homogénea	49 (59%)	32 (65,3%)	17 (34,7%)
Total	83	54 (65,1%)	29(34,9%)

IV.2.6.-TAMAÑO

De los 90 pacientes, 41(45,6%) presentaban en el momento del diagnóstico una lesión de menos de 2 centímetros, 29 (32,2%) mostraban un leucoplasia de entre 2 y 4 centímetros y en los 20 restantes (22,2%) el tamaño era mayor de 4 centímetros.

En la Figura 4.6 podemos observar la distribución del tamaño según percentiles de edad. La media de edad para los pacientes con leucoplasia menor de 2cm fue de 57,32(IC95% 53.50-61.13), en el grupo de 2 a 4 cms de 60,55 (IC95% 54,69-66,42) y para las mayores de 4 cms de 59,55 (IC95% 53,20-65,90), sin encontrar al hacer comparación de medias diferencias entre los grupos.

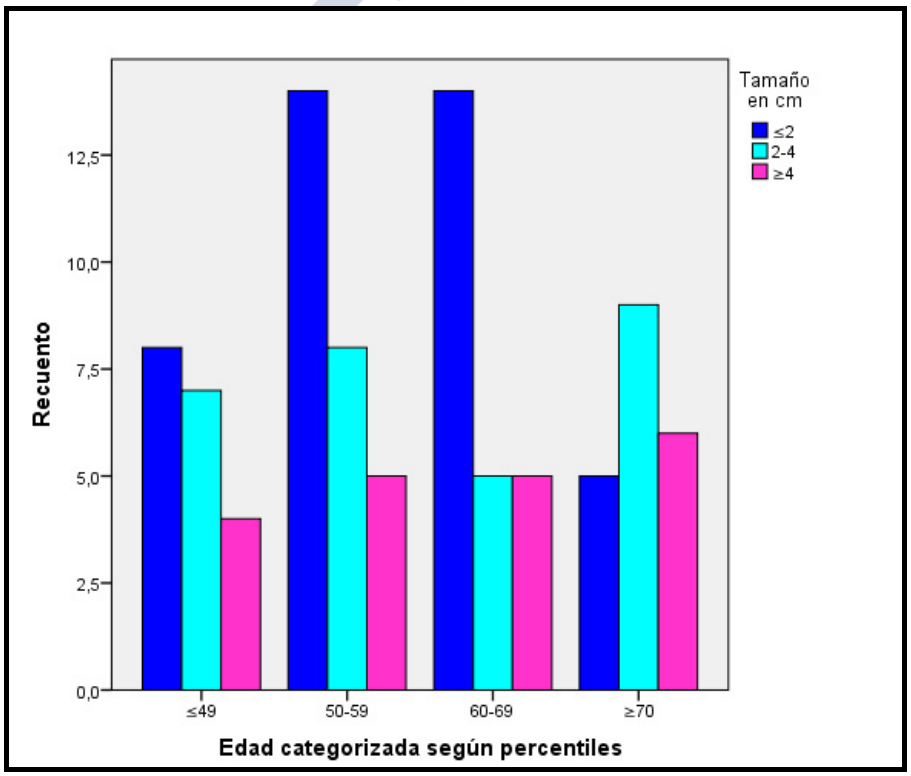


Figura 4.6.-Tamaño de leucoplasia distribuida por grupos de edad

Vemos en la tabla IV.7 la distribución de tamaño por sexo y no existen diferencias. Cuando empleamos dos grupos (menores de 2 cms y mayores de 2 cms), en las mujeres las lesiones de menos de 2 cm aparecen en el 40,9% de los casos, y el 59,1% de ellas presentan lesiones de más de 2 centímetros. Mientras en los hombres la distribución es al 50% cuando hablamos de lesiones de menos de 2cms o mayores.

La relación que existe entre el consumo de tabaco y el tamaño tampoco es significativa estadísticamente y tampoco tienen relación con la cantidad de cigarrillos fumados ni con los años como fumador. Las lesiones de más de 4 cms son más frecuentes en no fumadores (60%) que en fumadores (40%). La distribución de los casos la podemos ver en la tabla IV.8 en la que describimos los fumadores en dos grupos en función del consumo.

En lo que atañe al alcohol tampoco existe ninguna relación con el tamaño de la leucoplasia.

En la tabla IV.9 reflejamos la relación entre el tamaño de la lesión y la forma clínica.

IV.2.7.-NÚMERO DE LA LESIONES EN LA VISITA INICIAL

En cuanto al número de lesiones que presentaban en el momento del diagnóstico, encontramos leucoplasias únicas en 38 (42,2%) pacientes, mientras que, en 52 (57,8%), afectaba más de una localización.

En el grupo unitario la media de edad era de 59,68±13,81 y en el grupo de leucoplasias múltiples de 58,25±13,35. Observamos que no hay diferencias entre un grupo y otro. En la tabla IV.7 reflejamos la relación entre el sexo y el número de lesiones.

Tabla IV.7.-Distribución (%) del número de lesiones y el tamaño en los 90 pacientes por sexo

	Nº Pacientes	**Tamaño** (mayor en el caso de lesiones múltiples)			**Número de lesiones**	
		<2cm	**2-4cm**	**≥4cm**	**Simple**	**Múltiple**
Hombres	46 (51,1)	23 (50)	17 (37)	6 (13)	23 (50)	23 (50)
Mujeres	44 (48,3)	18 (40,9)	12 (27,3)	14 (31,8)	15 (34,1)	29 (65,9)
Total	90	41 (45,6)	29 (32,2)	20 (22,2)	38 (42,2)	52 (57,8)

Parece que en las mujeres existen lesiones que afectan a multiples localizaciones, sin embargo, al aplicar la prueba de Chi-cuadrado, no existen diferencias significativas.

Cuando relacionamos estos datos con el consumo y la cantidad de tabaco tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas (ambas p-valores mayores que 0,05). La distribución de frecuencias se muestra en la tabla IV.8.

Tampoco encontramos relación entre el consumo de alcohol y el número de lesiones presente.

Tabla IV.8.-Distribución (%) del número de lesiones y el tamaño de las lesiones y hábito tabáquico

	Nº Pacientes	Tamaño (mayor en el caso de lesiones múltiples)			Número de lesiones	
		<2cm	2-4cm	≥4cm	Simple	Múltiple
No fumador	50 (55,6)	21 (42,0)	17(34)	12 (24)	23 (46)	27 (54)
Fumador 1-19	10 (11,1)	3 (30)	6 (60)	1 (10)	3 (30)	7 (70)
Fumador ≥ 20	30 (33,3)	17 (56,7)	6 (20)	7 (23,3)	12 (40)	18 (60)
Total	90	41 (45,6)	29 (32,2)	20 (22,2)	38 (42,2)	52 (57,8)

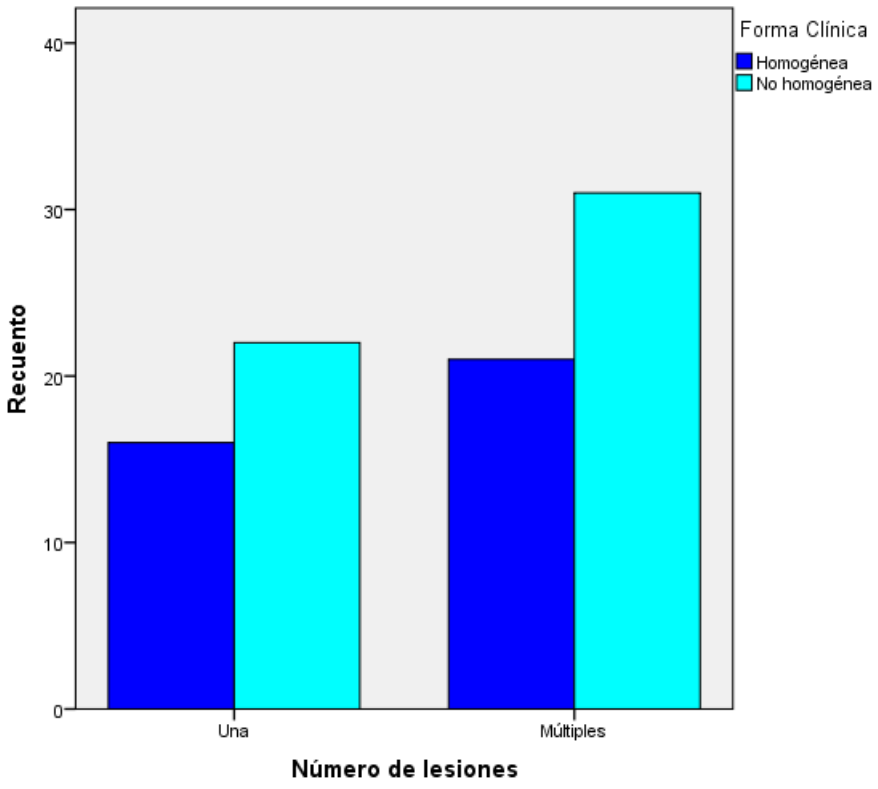


Figura 4.7.- Forma clínica y numero de lesiones

Como exponemos en la Figura 4.7 y en la tabla IV.9, las lesiones únicas son no homogéneas en el 57,9% de los pacientes, de forma similar se comportan las lesiones múltiples que se presentan de forma no homogénea en el 59,6% de los casos. La forma no homogénea más frecuente entre las lesiones múltiples es la verrucosa (26,9%) y de la forma única es la nodular (34,2%).

Tabla IV.9.-Distribución (%) de la forma clínica y tamaño y número de lesiones

	Nº Pacientes	Tamaño			Número de lesiones	
		<2cm	**2-4cm**	**≥4cm**	**Simple**	**Múltiple**
Homogénea	37 (41,1)	14 (45,9)	12(32,4)	8 (21,6)	16 (43,2)	21 (56,8)
No homogénea	53 (58,9)	24 (45,3)	17 (32,1)	12 (22,6)	22 (41,5)	31 (58,5)
Total	90	41 (45,6)	29 (32,2)	20 (22,2)	38 (42,2)	52 (57,8)

Como muestra la tabla IV.10 existe relación estadísticamente significativa con un valor p<0,0001 entre el tamaño de la leucoplasia y la presencia de una o múltiples lesiones, a mayor número de lesiones mayor tamaño.

Tabla IV.10.-Distribución (%) de la forma clínica y tamaño de la leucoplasia

Número de Pacientes		**Tamaño de la leucoplasia (en cm)**		
		<2cm	**2-4**	**>=4**
Una	38 (42,2)	31 (81,6)	5(13,2)	2(5,3)
Múltiples	52 (57,8)	10(19,2)	24 (46,2)	18(34,6)
Total	90	41(45,6)	29(32,2)	20(22,2)

IV.2.8.-LOCALIZACIÓN DE LA LESIÓN BIOPSIADA

Recogimos la localización de la zona biopsiada, para tener un control de las lesiones en su seguimiento y en las biopsias sucesivas. Posteriormente, siguiendo las recomendaciones de la última reunión de expertos(5) las

agrupamos empleando para ello la descripción de la localización según la clasificación ICD-10(144)

En la tabla IV.11 observamos la distribución en función de la localización, en la primera columna indicamos la zona de la mucosa afectada y entre paréntesis el código al que corresponde según la clasificación ICD-10, en la segunda el número de casos en cada localización. En la tercera la reagrupación de las lesiones según la primera cifra de la clasificación ICD-10, esto es C00 (labio);C02(lengua);C03(Encía);C04(Suelo de boca);C05(paladar); C06(mucosa yugal y partes inespecíficas). Y por último la cuarta columna en la que especificamos el número y porcentaje de los casos.

En 42 pacientes (46,7%) la leucoplasia se localiza en la lengua y en el suelo de la boca (localizaciones de riesgo).

Tabla IV.11.- Distribución (%) de la localización

Localización (clasificación ICD-10)	Casos	Reagrupacion	Casos
CARA DORSAL DE LENGUA (C02.0)	3	C02	34 (37,8%)
CARA VENTRAL DE LENGUA (C02.2)	10		
BORDE LATERAL IZQUIERDO(C02.1)	10		
BORDE LATERAL DERECHO (C02.1)	11		
SUELO DE BOCA (C04.0;1)	8	C04	8 (8,9%)
PALADAR DURO (C05.0)	3	C05	5 (5,6%)
PALADAR BLANDO (C05.1)	2		
MUCOSA YUGAL DERECHA (C06.0)	8	C06	21 (23,3%)
MUCOSA YUGAL IZQUIERDA (C06.0)	9		
ZONA RETROCOMISURAL (C06.0)	3		
FONDO DE VESTIBULO (C06.1)	0		
ZONA RETROMOLAR (C06.2)	1		
LABIO INFERIOR (C00.1)	3	C00	3 (3,3%)
REBORDE ALVEOLAR (C03)	7	C03	19 (21,1%)
ENCIA (C03.0/1)	12		

La localización más frecuente es la lengua (34 casos), y dentro de ella la zona más afectada el borde lateral (21 casos). La segunda localización es la zona de la mucosa yugal en toda su extensión con 21 casos. La tercera localización es la gingival en 19 pacientes. Las zonas con menor número de lesiones son el labio inferior (3), el paladar (5) y el suelo de la boca (8).

Teniendo en cuenta los grandes grupos considerados por la OMS y el sexo, vemos que en las mujeres la localización más afectada es la lengua, seguida de la encía, mucosa yugal, suelo de boca y labio, mientras que en los hombres a la lengua, le siguen mucosa yugal, encía, paladar, suelo de boca y por ultimo labio. En las mujeres no encontramos ninguna lesión en paladar (tabal 4.12).

La edad media de aparición en las lesiones de labio fue de 69±7,en la lengua de 60,09±12,57, en la encía de 56,63±12,02, en el suelo de boca de 58,87±19,4, en el paladar de 65,40±15,84 y en la mucosa yugal de 55,86±13,81, y no encontramos diferencias al comparar las media de edad. Podemos ver en la Figura 4.8 la distribución de localizaciones por percentiles.

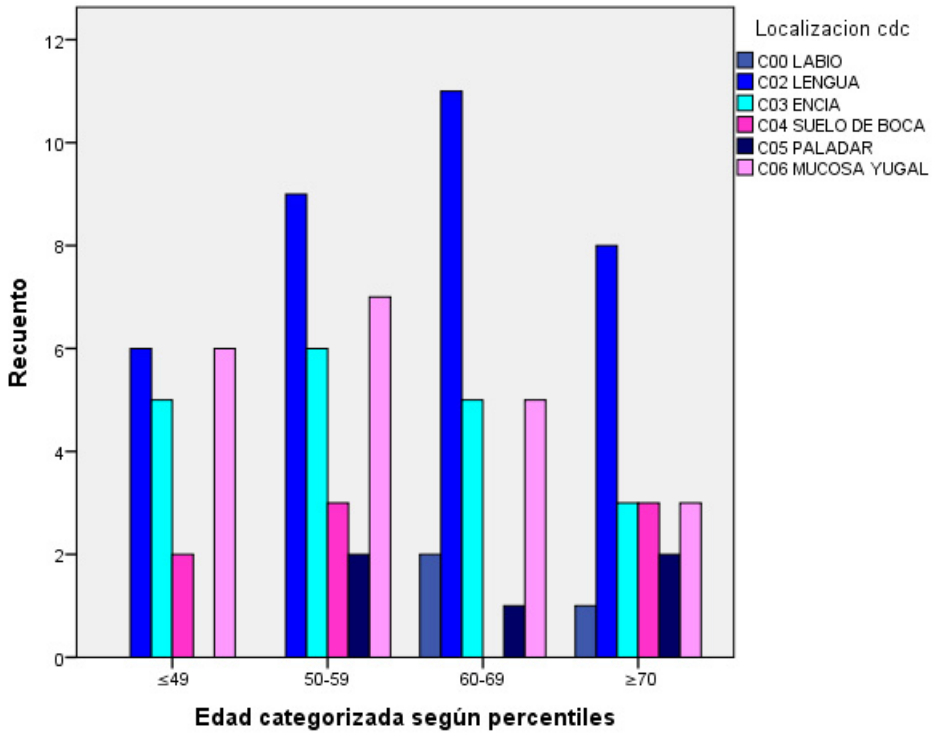


Figura 4.8.-Localización distribuida según percentiles

Tabla IV.12.-Distribución (%) de la localización en los 90 pacientes por sexo y forma clínica

localizacion icd-10	Nº pacientes	Sexo		Forma clínica	
		Hombre	Mujer	Homogenea	No homogenea
C00 LABIO	3 (3,3)	2 (4,3)	1 (2,3)	1 (2,7)	2 (3,8)
C02 LENGUA	34 (37,8)	16 (34,8)	18 (40,9)	10 (27,0)	24 (45,3)
C03 ENCIA	19 (21,1)	7 (15,2)	12 (27,3)	9 (24,3)	10 (18,9)
C04 SUELO DE BOCA	8 (8,9)	4 (8,7)	4 (9,1)	6 (16,2)	2 (3,8)
CO5 PALADAR	5 (5,6)	5 (10,9)	0 (0,0)	2 (5,4)	3 (5,7)
C06 PARTES INESPECIFICAS	21 (23,3)	12 (26,1)	9 (20,5)	9 (24,3)	12 (22,6)

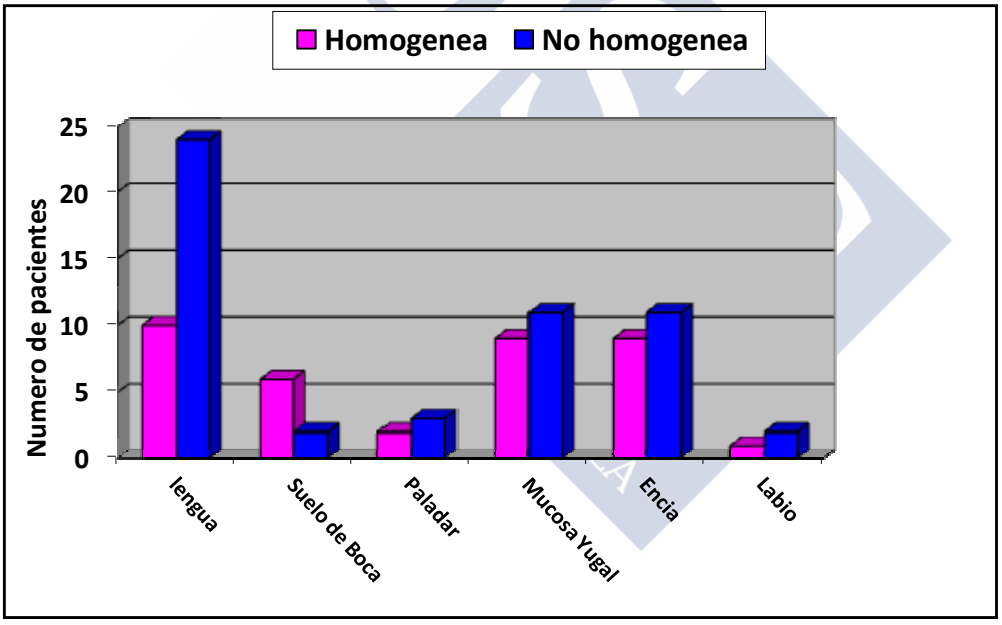


Figura 4.9.-Forma clínica y localización

Como podemos ver en la gráfica (Figura 4.9), la mayoría de las lesiones presentes en lengua son no homogéneas (70,6%) mientras que en el resto de las localizaciones la distribución es bastante similar. No encontramos

diferencias estadísticamente significativas entre la localización y la forma clínica de lesión.

Cuando relacionamos la localización y el tabaco nos encontramos que en función de la condición fumador o no fumador, la zona de aparición de la lesión es diferente sin llegar a ser estadísticamente significativo.

En los pacientes no fumadores (Figura 4.10) las zonas de afectación por frecuencia son: lengua (48%) , encía y mucosa yugal (20% cada una), paladar (6%) suelo de boca (4%) y por último labio inferior (2%).

Cuando hablamos de pacientes fumadores (Figura 4.11) el orden de frecuencia es: mucosa yugal(27,5%), lengua (25%), encía (22,5%), suelo de boca (15%), y por último paladar y labio (5% cada uno)

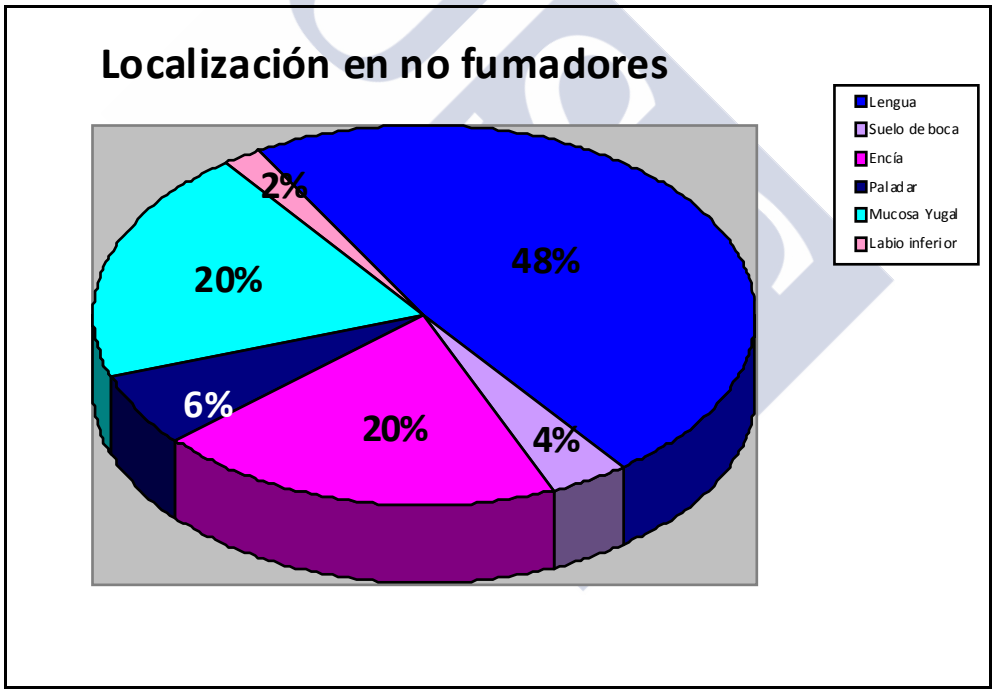


Figura 4.10.-Localización en pacientes no fumadores

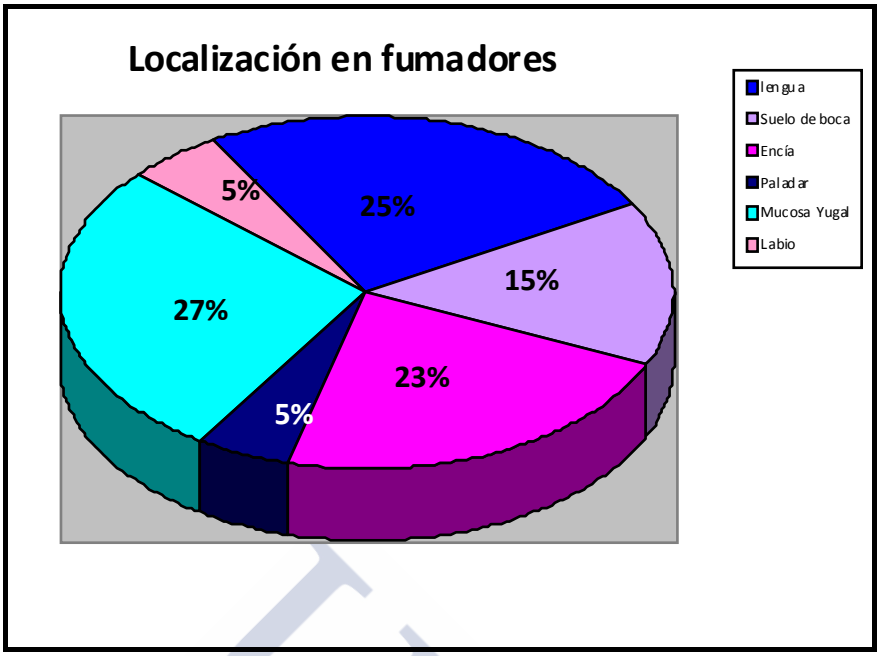


Figura 4.11.-Localización en pacientes fumadores

En cuanto al alcohol tampoco encontramos diferencias entre un grupo y otro.

En lo referente a las lesiones únicas la lengua es la zona más frecuente de aparición (44,7%) seguida de la encía (18,4%), paladar (13,2%), suelo de boca (10,5%), mucosa yugal (7,9%) y por último el labio (5,3%). En las lesiones múltiples, a la mucosa yugal (34,6%) le sigue la lengua (32,7) después la encía (23,1%), el suelo de la boca (7,7%) y el labio (1,9%).

IV.3.-DATOS ANATOMOPATOLOGICOS

La gradación de la displasia fue realizada de nuevo por el mismo anatomopatólogo empleando los cristales archivados en el Servicio de Anatomía Patológica del CHUS.

Con el fin de calibrar las variaciones inter e intrapatólogo realizamos un estudio previo de concordancia de valoración de displasia. Para ello remitimos 20 muestras que ya habían sido valoradas por el patólogo principal (Patólogo 1I), para que las valorase otro patólogo (Patólogo 2) y lo hiciera de nuevo el patólogo principal (Patólogo 1II)

IV.3.1- Estudio de concordancia de valoración de displasia

Se ha realizado un estudio para observar el grado de concordancia de la valoración de una biopsia por parte de dos patólogos o de un mismo patólogo en distintas fechas. Para ello se les ha remitido 20 muestras que ya habían sido valoradas por uno de los patólogos del laboratorio (Patólogo 1I), para que las valorase otro patólogo (Patólogo 2) y el mismo que ya las había revisado (Patólog 1II).

Para evaluar el grado de concordancia se ha utilizado el *índice Kappa de Cohen.* Dicho índice proporciona una medida del grado de acuerdo existente entre dos observadores al evaluar una serie de sujetos u objetos. Se calculan el *índice Kappa sin ponderar* (K_s) y el *índice kappa ponderado* (K_w) con pesos cuadráticos. El primero considera que todos los desacuerdos tienen la misma importancia, mientras que el segundo da una mayor fiabilidad cuando los desacuerdos entre los evaluadores son pequeños en comparación que cuando son grandes.

Estos índices se han calculado con el software estadístico de libre distribución R (versión 3.0.0)(145)

Tabla IV.13.-Valoración del mismo patólogo de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen

Patólogo 1I	Patólogo 1II						Índices kappa		Porcentaje de acuerdo exacto
	Ausente	Leve	Moderada	Severa	CA	Total	K_s y K_W (IC95%)	p-valor	
Ausente	4	0	0	0	0	4			
Leve	0	2	1	0	0	3	**0,502**	**<0,001**	
Moderada	0	1	3	1	0	5	**(0,445 – 0,558)**		60%
Severa	0	1	0	0	3	4	**0,777**		
CA	0	1	0	0	3	4	**(0,725 – 0,828)**	**<0,001**	
Total	4	5	4	1	6	20			

En la Tabla IV.13 aparece el recuento para la valoración hecha por el mismo patólogo. El índice kappa nos indica que el mismo patólogo tiene un porcentaje de acuerdo del 50,2% que no es debido al azar (P<0,001). El análisis comparativo entre las valoraciones realizadas por el patólogo 1 (1ª y 2ª) y el patólogo 2 se muestra en la tabla IV.14 y IV.15. Los índices kappa nos indican que el patólogo 2 tiene un porcentaje de acuerdo del 43% con la primera valoración del patólogo 1 y del 55,3% con la segunda valoración del patólogo 1; ambos porcentajes de acuerdo no son debidos al azar (P<0,001).

Si se agrupa el diagnóstico histopatológico en dos categorías, considerando únicamente bajo y alto grado de displasia, el patólogo 1 tiene el 58,8% de acuerdo entre sus valoraciones que no es debido al azar (P=0,007); la primera valoración del patólogo 1 con la valoración del patólogo 2 tienen un porcentaje de acuerdo del 65,9% que no es debido al azar (P=0,003) y, la segunda valoración del patólogo 1 con la valoración del patólogo 2 tienen el 47,9% de acuerdo que no es debido al azar (P=0,024). (Tablas IV.16, IV.17 y IV.18).

Tabla IV.14.-Valoración del patólogo 1l y 2 de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen

Patólogo 1l	Patólogo 2						Índices kappa		Porcentaje de acuerdo exacto
	Ausente	Leve	Moderada	Severa	CA	Total	K_S y K_W (IC95%)	p-valor	
Ausente	3	1	0	0	0	4			
Leve	0	1	2	0	0	3	**0,43**	**<0,001**	
Moderada	0	1	3	1	0	5	**(0,370 – 0,491)**		55%
Severa	0	0	1	1	2	4	**0,842**		
CA	0	0	1	0	3	4	**(0,812 – 0,871)**	**<0,001**	
Total	3	3	7	2	5	20			

Tabla IV.15.-Valoración del patólogo 1II y 2 de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen

Patólogo 1II	Patólogo 2						Índices kappa		Porcentaje de acuerdo exacto
	Ausente	Leve	Moderada	Severa	CA	Total	K_S y K_W (IC95%)	p-valor	
Ausente	3	1	0	0	0	4			
Leve	0	1	4	0	0	5	**0,553 (0,495 – 0,611)**	**<0,001**	
Moderada	0	1	3	0	0	4			65%
Severa	0	0	0	1	0	1	**0,916 (0,901 – 0,931)**	**<0,001**	
CA	0	0	0	1	5	6			
Total	3	3	7	2	5	20			

Tabla IV.16.-Valoración del mismo patólogo de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen

Patólogo 1I	Patólogo 1II			Índice kappa		Porcentaje de acuerdo exacto
	Grado bajo	Grado alto	Total	K_S (IC95%)	p-valor	
Grado bajo	6	1	7	**0,588 (0,509 – 0,667)**	**0,001**	**80%**
Grado alto	3	10	13			
Total	9	11	20			

Tabla IV.17.-Valoración del patólogo 1I y 2 de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen

Patólogo 1I	Patólogo 2			Índice kappa		Porcentaje de acuerdo exacto
	Grado bajo	Grado alto	Total	K_S (IC95%)	p-valor	
Grado bajo	5	2	7	**0,659 (0,581 – 0,738)**	**<0,001**	**85%**
Grado alto	1	12	13			
Total	6	14	20			

Tabla IV.18.-Valoración del patólogo 1II y 2 de 20 muestras. Índice de concordancia Kappa de Cohen

Patólogo 1II	Patólogo 2			Índice kappa		Porcentaje de acuerdo exacto
	Grado bajo	Grado alto	Total	K_S (IC95%)	p-valor	
Grado bajo	5	4	9	**0,479 (0,396 – 0,563)**	**0,012**	**75%**
Grado alto	1	10	11			
Total	6	14	20			

IV.3.2.-Presencia de displasia

En el momento del diagnóstico de los 90 pacientes, 61 (67,8%) pacientes no presentaban displasia, 26 (28.9%) tenían algún tipo de displasia y 3(3.3%) presentaban un carcinoma: 2 carcinomas in situ, 1 carcioma de células escamosas.

De las leucoplasias que tenían displasia en la visita inicial: 19 presentaban displasia leve (21,1%), 4 moderada (4,4%) y 3 severa(3,3%)

La distribución de la displasia en la visita inicial la podemos observar en la siguiente figura 4.12.

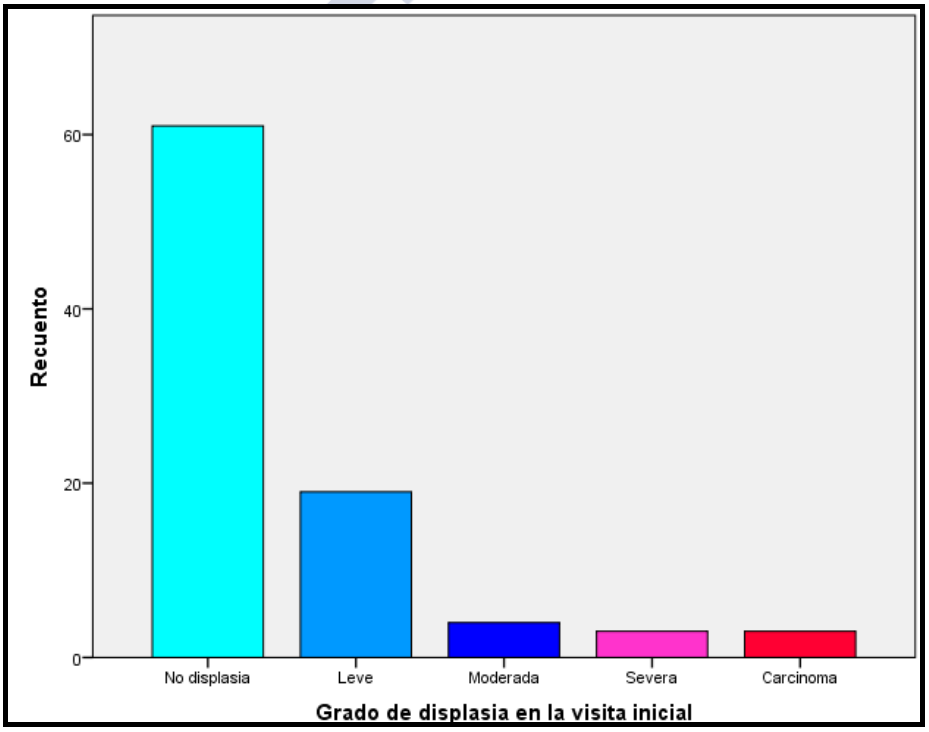


Figura 4.12.-Distribución de grado de displasia inicial

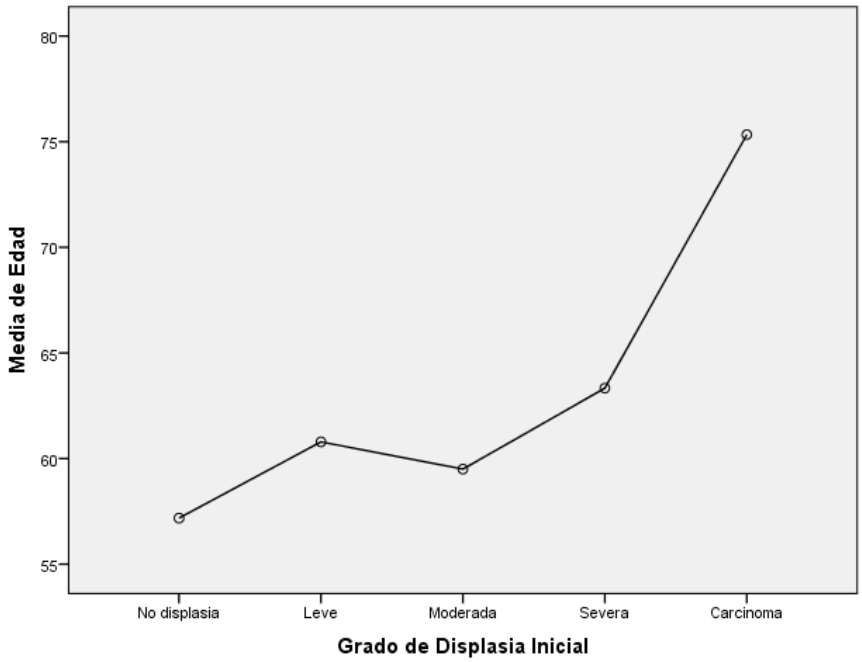


Figura 4.13.-Gráfico comparativo de las medias de edad según displasia

Podemos ver en el grafico la media de edad por grado de displasia, en el momento del diagnóstico aplicando el test ANOVA, no encontramos diferencias entre los 5 grupos. Tampoco cuando comparamos las medias de edad entre el grupo de alto y bajo riesgo de displasia.

IV.4.-SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES.

IV.4.1.-Biopsias realizadas a cada paciente

A todos los pacientes se les realizó la biopsia inicial, como aparece reflejado en material y método éste era uno de los criterios de inclusión. Por lo tanto el número de biopsias mínimo realizado es uno y el máximo 15, una paciente fue sometida a 15 biopsias a lo largo de los 12 años de seguimiento.

De los 90 pacientes en 36 se llevó a cabo una segunda biopsia, a 20 se le realizaron 3, a 13 pacientes 4, a 11 pacientes 5, a 7 pacientes 6, a 6 pacientes 7, a 4 pacientes 8 biopsias y por último a un paciente se le realizaron 15 biopsias a lo largo del seguimiento.

En cuanto al tipo de biopsia, en la biopsia diagnóstica o inicial a 56 (62,2%) de los 90 pacientes se les realizó una biopsia incisional y a los 34 (37,8%) restantes se les practicó una biopsia escisional.

IV.4.2.-EVOLUCIÓN DE LAS LESIONES

El tiempo medio de seguimiento de los 90 pacientes fue 4,14 años (+-3,52). El tiempo mínimo de seguimiento fue de 1 año, en el diseño del estudio que hemos considerado criterio de exclusión tener un tiempo de seguimiento inferior a 12 meses, y el tiempo máximo fue de 15 años.

De los 90 pacientes:

12(13.3%) sufrieron un evento oncológico

25 (27,8%) pacientes se encontraban libres de lesión en la última visita de revisión

11 (12.2%) lesiones reaparecieron en la misma localización,

11 (12.2%) pacientes presentaron nuevas lesiones

31 (34.4%) se mantuvo la lesión estable, sin cambios

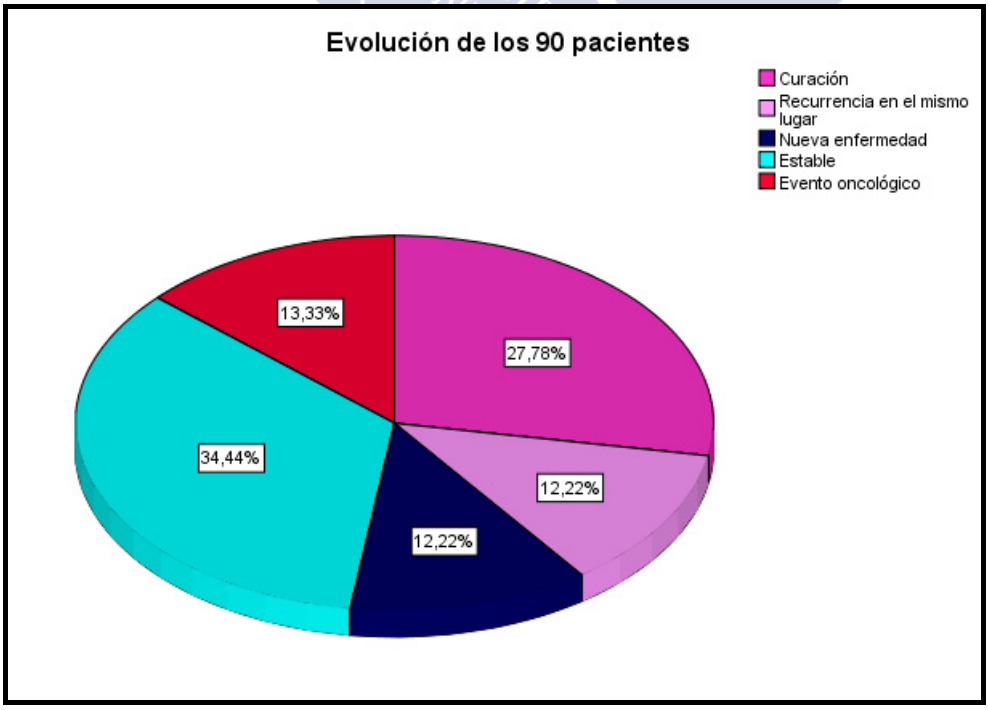


Figura 4.14.-Evolución de las lesiones en los 90 pacientes

De los pacientes que sufrieron transformación maligna: 3 presentaron un carcinoma en la biopsia inicial, 9 desarrollaron un carcinoma a lo largo del seguimiento.y en 5 pacientes la localización del cáncer coincidió con las lesiones previas de leucoplasia pero 4 sufrieron malignización en zonas alejadas de las lesiones inicialmente biopsiadas

Presentamos en la tabla IV.19 las características clínicas de los pacientes que sufrieron transformación maligna.

Tabla IV.19.-Características clínicas de los pacientes que sufrieron un evento oncológico

Caso	Edad inicial	Edad final	Sexo	Zona de primera biopsia	Grado de displasia	Meses	Zona de tumor	Status
4	58	69	M	Encía	Ausente	133	Paladar	Ca infiltrante
7	79	79	M	Lengua borde lateral	Ca in situ	0		
14	92	92	M	Suelo de boca	Ca in situ	0		
28	50	52	M	Mucosa yugal	Ausente	1	Encia	Carcinoma Epidermoide
37	38	39	H	Borde lateral de lengua	Ausente	12	Borde lateral de lengua	Carcinoma in situ
45	58	70	M	Borde lateral de lengua	Leve	142	Borde lateral de lengua	Carcinoma verrucoso
50	59	66	M	Borde lateral de lengua	Moderada	87	Borde lateral de lengua	Carcinoma Infiltrante
61	62	68	H	Cara ventral de lengua	Leve	70	Reborde alveolar	Carcinoma Infiltrante
62	33	33	M	Mucosa yugal	Ausente	5	Mucosa yugal	Carcinoma verrucoso
79	69	70	M	Borde lateral de lengua	Severa	16	Reborde alveolar	Carcinoma in situ
80	55	55	H	Cara ventral de lengua	Carcinoma epidermoide	0		
83	66	66	H	Borde lateral de lengua	Leve	6	Borde lateral de lengua	Carcinoma in situ

IV.5. ESTUDIO ESTADISTICO DE VALORACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO DE DISPLASIA

Como resultado del estudio de variabilidad intra patólogo decidimos recodificar el grado de displasia y considerar dos grupos bajo grado (no displasia o lesión displásica leve) y alto grado (lesión displásica moderada o severa y CA). Para poder llevar a cabo la comparación entre esta variable y las variables clínicas, para ello también agrupamos éstas, por motivos estadísticos y de comparación de resultados como se indica en la siguiente tabla IV.20.

Tabla IV.20.-Distribución (%) de los factores de riesgo y diagnóstico histopatológico de los 90 pacientes y, p-valores de comparación de riesgos.

Factores de riesgo	Nº Pacientes	Diagnóstico histopatológico					p-valor
		Bajo Riesgo		Alto Riesgo			
		Lesión no displásica	Leve	Lesión displásica			
				Moderada	Severa	CA	
Sexo							0,518*
Hombres	46 (51,1)	34 (73,9)	8 (17,4)	2 (4,3)	1 (2,2)	1 (2,2)	
Mujeres	44 (48,3)	27 (61,4)	11(25)	2 (4,5)	2 (4,5)	2 (4,5)	
Edad (en años)							0,941
< 60	46 (51,1)	34 (73,9)	7 (15,2)	3 (6,5)	1 (2,2)	1 (2,2)	
≥60	44 (48,3)	27 (61,4)	12(27,3)	1 (2,3)	2 (4,5)	2 (4,5)	
Localización							**0,005***
Otras localizaciones	48 (53,3)	41 (85,4)	6 (12,5)	1 (2,1)	--	--	
Lengua y suelo boca	42 (46,7)	20 (47,6)	13 (31)	3 (7,1)	3 (7,1)	3 (7,1)	
Forma clínica							**0,005***
Homogénea	37 (41,1)	31 (83,8)	6 (16,2)	--	--		
No homogénea	53 (58,9)	30 (56,6)	13(24,5)	4 (7,5)	3 (5,7)	3 (5,7)	
Tamaño lesión							0,765
<2cm	41 (45,6)	30 (73,2)	6 (14,6)	3 (7,3)	1 (2,4)	1 (2,4)	
≥2cm	49 (54,4)	31 (63,3)	13(26,5)	1 (2)	2 (4,1)	2 (4,1)	
Nº lesiones							1,000*
Simple	38 (42,2)	26 (68,4)	8 (21,1)	2 (5,3)	2 (5,3)	--	
Múltiple	52 (57,8)	35 (67,3)	11(21,2)	2 (3,8)	1 (1,9)	3 (5,8)	
Consumo tabaco							0,502*
No fumador	50 (55,6)	31 (62)	12 (24)	2 (4)	3 (6)	2 (4,)	
Fumador	40 (44,4%)	30 (75)	7 (17,5)	2 (5)	--	1 (2,5)	
Consumo alcohol							0,287*
Desconocido	7 (7,8)	6 (85,7)	1 (14,3)	--	--	--	
Bebedor	29 (32,2)	19 (65,5)	5 (17,2)	3 (10,3)	1 (3,4)	1 (3,4)	
Abstemio	54 (60)	36 (66,7	13 (24,1)	1 (1,9)	2 (3,7)	2 (3,7)	
Total	90	61 (67,8)	19 (21,1)	4 (4,4)	3 (3,3)	3 (3,3)	

* Correspondiente a la prueba exacta de Fisher puesto que una de las frecuencias esperadas es menor que 5

La distribución de los 8 factores de riesgo por diagnóstico histopatológico se presenta en la Tabla IV.20. Se han realizado test Chi-cuadrado considerando el diagnóstico histopatológico en dos grados: bajo grado, ausencia de displasia o lesión displásica leve y alto grado, lesión displásica moderada o severa y Carcinoma. El valor P se refleja en la última fila.

Observamos que las leucoplasias no homogéneas tienen un riesgo significativamente mayor de tener una lesión displásica de alto grado que las homogéneas (P=0,05).

En cuanto a la localización, las lesiones localizadas en la lengua o en el suelo de la boca tienen un riesgo significativamente mayor de tener una lesión displásica de alto grado que las situadas en el resto de la boca (P=0,05). Para el resto de los factores de riesgo no se han encontrado relaciones significativas (P>0,05).

También se ha realizado un ajuste de regresión logística para medir el riesgo considerando como variable dependiente el grado de displasia y como variables independientes los factores de riesgo presentados en la tabla anterior. A continuación se presenta la tabla de resultados (tabla IV.21) con los modelos bivariados. No se ha ajustado un modelo multivariado debido a que sólo una de las variables dependientes ha resultado ser significativa.

Tabla IV.21.-Análisis de regresión logística

Variables independientes (categoría de referencia)	**Modelos bivariados**		
	OR	**IC 95%**	**p-valor**
Sexo (hombres)	1,65	0,43-6,33	0,455
Edad (≥60)	1,051	0,28-3,91	0,941
Localización (todas excepto lengua y suelo de boca)	12,81	1,55-106,09	0,018
Tabaco (fumador)	2,01	0,48-8,32	0,337
Alcohol (no bebedor)	2,04	0,53-7,73	0,294
Forma clínica (homogeneas)	-	-	0,998
Tamaño (<2)	0,818	0,220-3,049	0,765
Numero de lesiones (unica)	1,109	0,29-4,24	0,880

Debemos observar que se obtiene un OR de 12,82 (IC95% (1,53 – 106,09)) para las leucoplasias situadas en la lengua o el suelo de la boca, es decir, existe casi 13 veces más riesgo de tener una displasia de alto grado si la leucoplasia está situada en la lengua o en el suelo de la boca que en otras localizaciones. Relación estadísticamente significativa.

El valor OR que obtenernos cuando realizamos el análisis de regresión logística para la forma clínica y el grado de displasia es muy elevado en este caso la estimación del modelo no es robusta quizás debido a que en la muestra no hay lesiones homogéneas que presenten alto grado de displasia.

En lo que respecta al tabaco y al alcohol que el no fumador presenta el doble de riesgo de presentar una displasia de alto grado y el “bebedor” también presenta el doble de riesgo frente al “no bebedor”.

IV.6. ESTUDIO ESTADISTICO DE SUPERVIVENCIA

- Estudio de seguimiento: desde la primera consulta hasta la ocurrencia de una transformación maligna (CA).

Se ha realizado un estudio de seguimiento a los 90 pacientes. Se han descartado 5 de éstos puesto que en la primera biopsia realizada o en los 6 meses posteriores se les detectó un CA. De los 85 pacientes restantes, incluídos en el estudio de supervivencia, el tiempo medio de seguimiento fue de 4,13 años (IC95%: (3,36 - 4,89)). De éstos pacientes, 7 (8,2%) sufrieron una transformación maligna, con una media de seguimiento de 5,58 años (IC95%: (1,15 - 10,02)).

Tabla IV.22.-Distribución (%) de los factores de riesgo y diagnóstico histopatológico de los 85 pacientes y, p-valores de comparación de riesgos.

Factores de riesgo	Nº Pacientes	Diagnóstico histopatológico		
		No CA	CA	p-valor
Sexo				0,702*
Hombres	45 (52,9)	42 (93,3)	3 (6,7)	
Mujeres	40 (47,1)	36 (90)	4 (10)	
Edad (en años)				1,000*
<60	43 (50,6)	39 (90,7)	4 (9,3)	
≥60	42 (49,4)	39 (92,9)	3 (7,1)	
Localización				**0,044***
Otras localizaciones	46 (54,1)	45 (97,8)	1 (2,2)	
Lengua y suelo boca	39 (45,9)	33 (84,6)	6 (15,4)	
Forma Clínica				0,230*
Homogénea	36 (42,4)	35 (97,2)	1 (2,8)	
No homogénea	49 (57,6)	43 (87,8)	6 (12,2)	
Tamaño lesión				1,000*
<2cm	40 (47,1)	37 (92,5)	3 (7,5)	
≥2cm	45 (52,9)	41 (91,1)	4 (8,9)	
Nº lesiones				1,000*
Simple	38 (44,7)	35 (92,1)	3 (7,9)	
Múltiple	47 (55,3)	43 (91,5)	4 (8,5)	
Consumo tabaco				0,124*
No fumador	47 (55,3)	41 (87,2)	6 (12,8)	
Fumador	38 (44,7)	37 (97,4)	1 (2,6)	
Consumo alcohol				1,000*
Desconocido	7 (8,2)	7 (100)	--	
No bebe	50 (64,1)	45 (90)	5 (10)	
Bebe	28 (35,9)	26 (92,9)	2 (7,1)	
Diagnóstico histopatológico inicial				**0,026***
Ausente	59 (91,8)	57 (96,6)	2 (3,4)	
Displasia	26 (30,6)	21 (80,8)	5 (19,2)	
Total	85	78 (91,8)	7 (8,2)	

* Correspondiente a la prueba exacta de Fisher puesto que una de las frecuencias esperadas es menor que 5

La edad media al final del seguimiento es de 64,14(IC95%(53,76-74,53)) para el grupo que desarrolla carcinoma y la edad media en el grupo que no desarrolla el evento al final del seguimiento es de 62,69 (IC95% (59,68-65,69)). No hay diferencias entre los dos grupos.

Los resultados muestran que únicamente dos de los factores de riesgo que son la localización y el diagnóstico histológico inicial presentan una relación estadísticamente significativa con la transformación maligna al aplicar el test chi-cuadrado.

Para el resto de factores, llevamos a cabo un estudio de regresión logística binaria considerando como variable dependiente la transfomación maligna para observar el Odds ratio de transformación maligna.

Tabla IV.23.-Análisis de regresión logística

Variables independientes (categoría de referencia)	**Modelos bivariados**		
	OR	**IC 95%**	**p-valor**
Sexo (hombres)	1,55	0,32-7,40	0,579
Edad (≥60)	1,33	0,28-6,35	0,728
Tabaco (fumador)	5,41	0,62-47,00	0,126
Alcohol (no bebedor)	1,44	0,26-7,98	0,673
Forma clínica (homogéneas)	4,88	0,56-42,49	0,151
Tamaño (<2)	1,2	0,252-5,73	0,816
Numero de lesiones (única)	1,08	0,22-5,17	0,91

Como podemos ver en la tabla IV.23 los no fumadores tienen un riesgo 5,41 veces de sufrir una transformación que los fumadores, similar situación nos encontramos en los portadores de lesiones no homogéneas cuyo riesgo es de 4,88 veces mayor que el de las lesiones homogéneas.

Para estudiar el tiempo hasta que ocurre el evento (transformación maligna) se ha utilizado el método de Kaplan-Meier.

En la figura 4.15 podemos ver la curva de superviviencia generada para todas las lesiones, sin distinción según los factores de riesgo. Podemos observar como el mayor número de transformaciones tiene lugar a partir del 5º año de seguimiento.

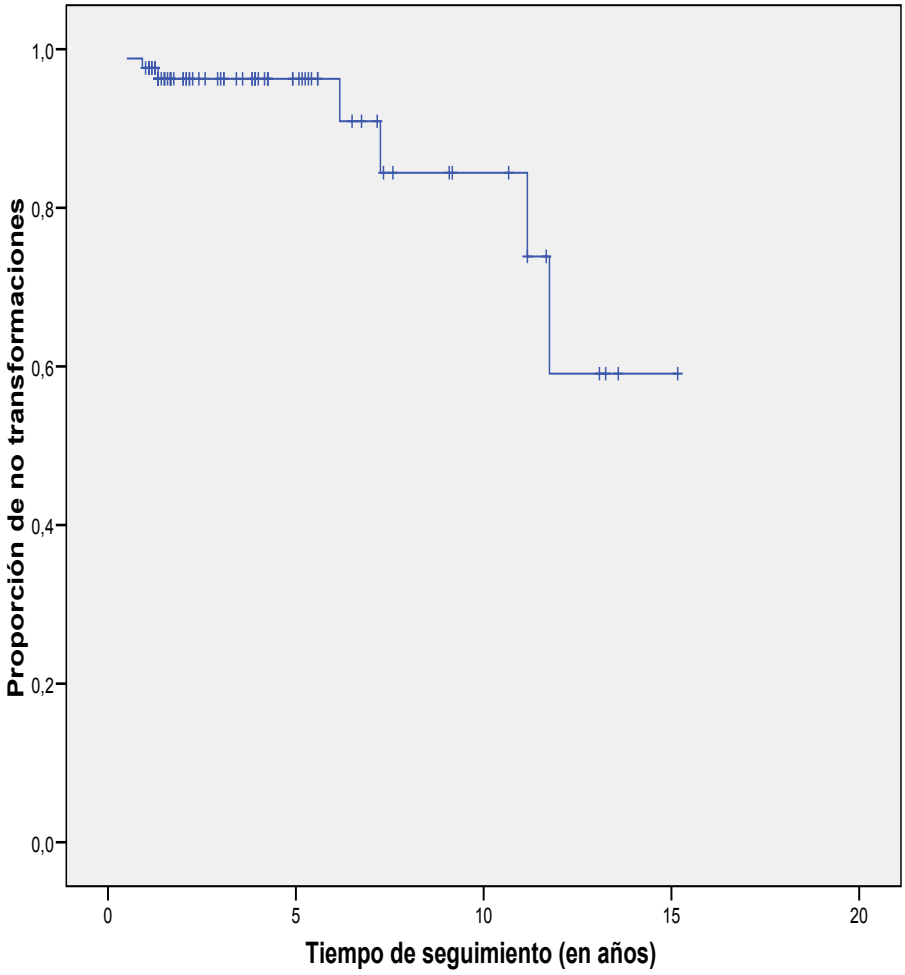


Figura 4.15.-Supervivencia libre de transformación maligna durante el período de seguimiento.

Podemos ver en las tabla IV.24 la proporción de supervivencia libre de transfomación maligna a lo largo del seguimiento a 1 año, a los 5, a los 7 a los 8 y a los 11. Podemos ver que a los 11 años de evolución se espera que el 73,9% de las leucoplasias se encuentren libres de transformación maligna.

Tabla IV.24.-Análisis de supervivencia para la no malignización de leucoplasias orales.

Años	Proporción libre de transformación maligna (SE)
1	97,6 (0,016)
5	96,3 (0,021)
7	91,0 (0,056)
8	84,5 (0,081)
11	73,9 (0,122)

Tabla IV.25.-Análisis de supervivencia de los factores de riesgo para la Transformación maligna de leucoplasias orales.

Características	Malignización/ Total	Porcentaje PSM a 5 años (SE)	Porcentaje PSM a 11 años (SE)
Todos los pacientes (85)	7/85	96,3 (0,021)	73,9 (0,122)
Localización de la lesión			
Otras localizaciones	1/46	-	75,0 (0,217)
Lengua/suelo boca	6/39	92,2 (0,043)	46,9 (0,213)
Diagnóstico histopatológico inicial			
Ausente	2/59	98,3 (0,017)	81,9 (0,150)
Cualquiera	5/26	92,1 (0,053)	31,6 (0,240)

En la tabla IV.25 se presenta el porcentaje sin malignizaciones(PSM), entre paréntesis reflejamos el error estándar (ES) para los 85 pacientes en relación con los factores de riesgo relacionados, a los 5 y a los 11 años. Indicando que para la localización en lengua el porcentaje de pacientes libres de transformación maligna a los 11 años de seguimiento es de 46,9%, frente al 75% en otras localizaciones. O en el caso de los pacientes que no presentan displasia inicial a los 11 años el 81,9% de ellos no han sufrido transformación maligna.

En la siguiente figura las curvas de supervivencia generadas al comparar los valores de los dos factores. Y como al aplicar el test Long Rank de comparación de curvas la relación entre la localización y la transformación maligna pierde significación estadística P=0,058, mientras que la presencia de displasia sigue estando presente P=0.031. Por lo tanto sólo podemos considerar como único factor independiente la displasia como relacionada con la progresión de la lesión a carcinoma.

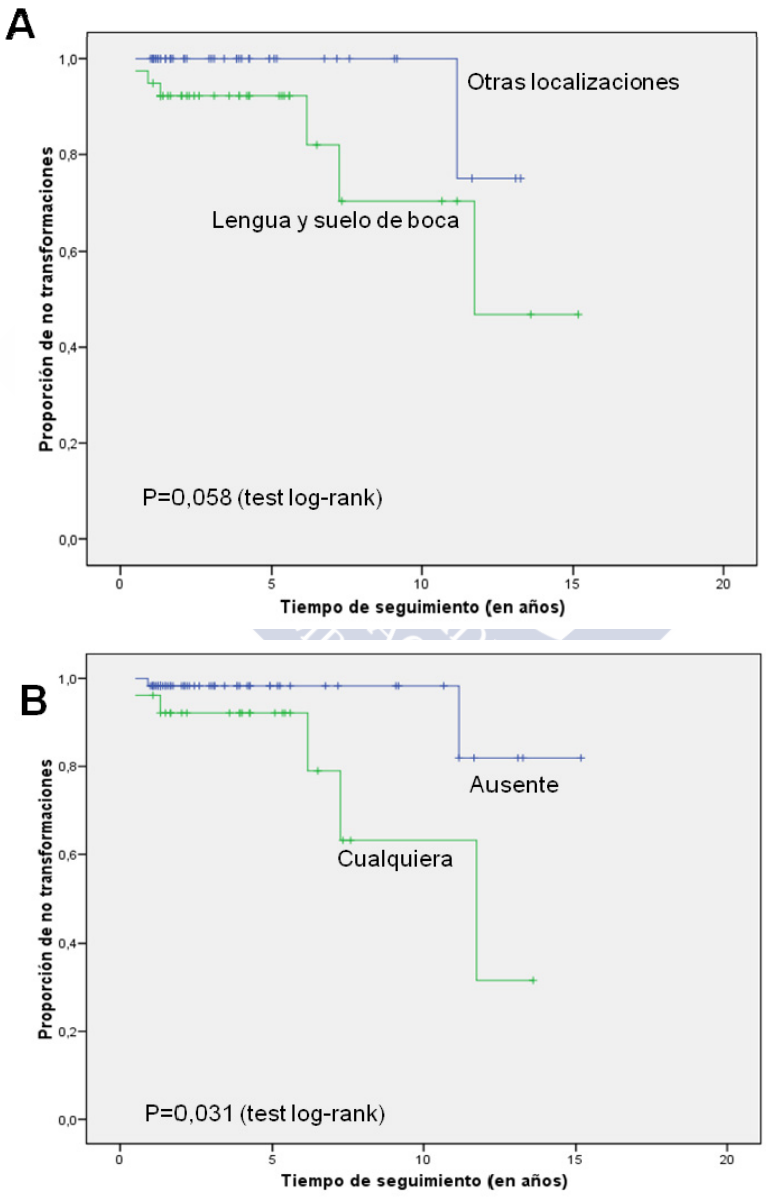


Figura 4.16.-Supervivencia libre de cáncer oral durante el período de seguimiento por localización y diagnóstico histopatológico inicial.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

V. DISCUSIÓN



USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

V.-DISCUSION

Las lesiones precancerosas, más concretamente la leucoplasia, representan un campo de difícil estudio debido a los cambios en la nomenclatura y definición desde que fueron descritos por primera vez hasta nuestro tiempo. Igualmente no existen criterios establecidos para el estudio epidemiológico, nos encontramos con recomendaciones, clasificaciones que no han sido evaluadas con rigor científico. Un ejemplo de lo mencionado lo constituye la clasificación de la leucoplasia, se ha intentado llevar a cabo una clasificación multifactorial similar a la TNM del cáncer, que nos permita estimar la "gravedad o momento evolutivo" de la lesión y establecer así un tratamiento adecuado en cada caso(31,67,86,102).

Si analizamos los estudios clínicos existentes sobre leucoplasia, los criterios de inclusión y exclusión, los intervalos de seguimiento, las características de los pacientes, varían según los distintos autores haciendo difícil la comparación de los estudios con el que nos atañe.

Muchos de los autores llevan a cabo el estudio de la displasia oral sin tener en cuenta la lesión clínica, o bien agrupando todas las alteraciones potencialmente malignas. Son pocos los artículos que llevan a cabo el estudio restringido a lesiones de leucoplasia oral y consideran sólo la displasia procedentes de ella. Si sabemos que la lesión que tiene mayor capacidad de malignizarse es la leucoplasia no deberíamos tratar por igual todas las lesiones supuestamente precancerosas por esa razón, en este trabajo hemos decidido centrarnos sólo en aquellas lesiones que cumplen los criterios clínicos de leucoplasia y que mediante estudio anatomopatológico no pueden ser diagnosticadas como otra lesión.

A esto se añade la dificultad y el arduo trabajo de llevar a cabo un estudio retrospectivo de revisión de seguimiento clínico y recopilación de información anatomopatológica.

La justificación clínica de nuestro trabajo de investigación radica en la capacidad para identificar pacientes con leucoplasia oral con mayor riesgo de desarrollo de cáncer, capacidad crítica, para mejorar el control de cáncer oral. Una vez identificado el mayor riesgo individual podríamos aplicar opciones de tratamiento más agresivas y un seguimiento más intenso(135).

Tambíen estimar la prevalencia de carcinoma en la leucoplasia y la asociación con los factores de riesgo resulta beneficioso para la identificación de lesiones de alto riesgo en la cavidad oral permitiéndonos el diagnóstico precoz.

V.1.-SELECCIÓN DE LA MUESTRA

El estudio se realizó en una muestra de 90 pacientes, en los que tomamos 194 biopsias, con el objeto de observar el comportamiento de la leucoplasia a largo plazo. De estos 90 pacientes, 3, presentaban carcinoma en el momento de la visita inicial lo que nos hace pensar en la importancia del diagnóstico precoz de estas lesiones para instaurar un tratamiento temprano del cáncer oral y con ello aumentar la supervivencia tal y como se describe en la literatura. El diagnóstico precoz es fundamental en la evolución de la enfermedad puesto que ningún tratamiento, ya sea la escisión quirúrgica, la vaporización o exéresis con láser, tratamiento médico etc... ha demostrado ser eficaz en la disminución de la transformación en comparación con el simple seguimiento de las lesiones(66,69,132). Sin duda el diagnóstico precoz de la transformación maligna de las lesiones constituye el hito clínico más importante en el seguimiento de los pacientes con lesiones de leucoplasia.

Decidimos basándonos en la literatura(101,135,140-142), excluir del estudio de supervivencia a los pacientes que presentaron carcinoma en la biopsia inicial y a los que desarrollaron un carcinoma en los 6 meses posteriores, ya que como realizamos de forma habitual una biopsia incisional para llevar a cabo el diagnóstico, eliminamos así el posible error en la elección de la zona de la toma de biopsia, asumiendo que el carcinoma estaba presente

en la visita inicial. De la misma forma excluimos a aquellos pacientes que presentaban un carcinoma concomitante en el momento del diagnóstico, aún así los datos clínicos de estos pacientes fueron incluidos en la parte descriptiva ya que la lesión de base que presentaban era leucoplasia.

Otro factor a tener en cuenta es que en el grupo que conforma la muestra no se incluyen aquellos pacientes con lesiones de leucoplasia que desaparece o reduce el tamaño al abandonar el hábito tabáquico, sólo llevamos a cabo el estudio anatomopatológico si ésta persiste en el tiempo, introduciendo posiblemente un sesgo en la elección de la muestra que tenemos que tener presente a la hora de evaluar los resultados.

V.2. FACTORES DE RIESGO

En nuestro estudio la edad media de aparición de la leucoplasia se sitúa en 58,86±13,49 años cuando consideramos todos los grupos, en consonancia con otros estudios que la sitúan entre la cuarta y la sexta década de la vida(12,31,112,119,146,147,148). Sin embargo, podemos encontrar descrita la presencia de leucoplasia en décadas más tempranas, sobre todo en regiones de la India (149) quizás debido a determinados hábitos, como el consumo de tabaco en adolescentes. En un reciente estudio(150) se recoge que el 36,9% de los niños fuman antes de cumplir los 10 años, en nuestro país se registran cifras de consumo de tabaco en torno al 6,1% en hombres y 4,5% en mujeres en el periodo de 13-14 años(151). Estas diferencias en el consumo podrían explicar una pronta aparición de lesiones de leucoplasia.

En relación a la distribución por grupos de edad, no encontramos diferencias significativa, a este respecto, Misrha (149), a pesar de encontrar un índice similar de afectación entre hombres y mujeres, observa que por encima de los 40 años el predominio de las mujeres es mayor mientras que antes de los 40 años son más numerosos los hombres afectados.

En cuanto al sexo, observamos una afectación similar entre hombres y mujeres obteniendo un índice de 1:1, estos resultados son similares a los

encontrados por otros autores(11,119,148,149,152), aunque existe una gran disparidad en cuanto a la incidencia por sexos, ya que podemos ver reflejada una mayor presencia en hombres(112,114,153,154), en algunos casos las variaciones son muy amplias, probablemente influenciadas por los hábitos extendidos en determinadas poblaciones, como es el caso de Taiwan, así Lee(155) en un estudio reciente encuentra afectación en el 77,78% de los hombres que asume que son consecuencia de una mayor prevalencia del consumo de tabaco y pan masala en los varones. En Suecia, en un estudio llevado a cabo en 2007(156)sobre 555 pacientes 467 eran hombres y 88 mujeres, igualmente Feller(157) en África observa una relación de 1.5:1 hombre:mujer. Por el contrario, otros autores describen un mayor predominio entre las mujeres(12,146,147) sin encontrar una explicación a esta gran variabilidad. A pesar de las diferencias observadas en los artículos, Petti(10) en su revisión sistemática en 2003 dice no encontrar diferencias geográficas consistentes entre Norte América, Europa y Este de Asia. Y en lo que respecta al sexo observa una prevalencia de 3,2 hombres por 4,76 mujeres.

El factor etiológico más claramente relacionado con la leucoplasia es el consumo de tabaco en todas sus formas(69,158-160). El consumo de tabaco se ha asociado a un riesgo 6 veces mayor de desarrollo de leucoplasia cuando se compara a los no fumadores(21). Se ha demostrado una relación dosis-respuesta, y podemos ver un aumento del riesgo de aparición de leucoplasia a medida que aumenta el número de cigarrillos consumidos por día(24). Sciuba(40) describe en su artículo los resultados que obtiene Kaugars en 1192 en los que describe que hacen falta un mínimo de 2190 horas de consumo de tabaco no fumado antes de diagnosticar una lesión hiperqueratótica mientras que para desarrollar displasia epitelial hacen falta 7300 horas de exposición, esto es un mínimo de 2 años para producir hiperqueratosis y para desarrollar displasia 6,6 años.

En nuestro estudio, de los 90 pacientes, 42 negaban haber fumado (46,7%), 36 eran fumadores en el momento del diagnóstico (40%) y 12 eran ex fumadores(13,3%). Esto está en contradicción con algunos autores(11,157) que describen unos índices de consumo de tabaco entre el 70% y el 90%, así

en el grupo que estudió Silverman(12) el 73% de los pacientes eran fumadores o en el analizado por Sugar(161) cuya muestra está formada por un 83% de fumadores. Quizás el que haya un mayor número de no fumadores en nuestro estudio, se deba a la forma de proceder en el manejo de los pacientes fumadores, a los que sólo se somete a biopsia cuando después de eliminar el hábito tabáquico la lesión persiste, excluyendo del estudio a aquellos que desaparece, asumiendo que podemos estar introduciendo un sesgo en la selección.

Hemos encontrado que *existen diferencias estadísticamente significativas en lo que respecta al consumo de tabaco y el sexo.* Los hombres fuman más que las mujeres. Esto refleja la situación para la población general y el consumo de tabaco. En el informe sobre consumo de tabaco en España en el año 2011 accesible desde la página del Ministerio de Sanidad (www.pnsd.msssi.gob.es/Categoria2/publica/pdf/2012NATIONAL_REPORT_REITOX.pdf). El consumo de tabaco diario está más extendido entre los hombres en todos los tramos de edad, llegando a su nivel máximo en el segmento de entre 35 y 44 años (38,1%) mientras que las mujeres muestran la mayor prevalencia en el tramo de entre 25 y 34 años (31 %). La mayor diferencia entre sexos se encuentra en el tramo de 55 a 64 años (27,5% de los hombres frente al 16,3% de las mujeres) mientras que las proporciones aparecen más igualadas entre los 15 y los 24 años (28,7% de los hombres frente al 24,8% de las mujeres). El consumo diario medio de cigarrillos, entre los españoles de entre 15 y 64 años en el último mes, es de 13,6 cigarrillos. El hombre fuma más cantidad diariamente (14,6 cigarrillos)(162).

Observamos también que los fumadores con lesiones de leucoplasia son más jóvenes que los no fumadores. La media de edad del grupo de fumadores es de 49,58±11.67 frente al grupo de no fumadores cuya media de edad es de 66.28±9,78, encontrando que existe diferencia significativa entre ambos grupos. Estas discrepancias, al comparar las medias de edad han sido descritas por otros autores(73,74,111,155,157).

Al igual que Scheifele(163) observamos un porcentaje más alto de fumadores (54,1%) en la forma clínica homogénea frente a la no homogénea más frecuente en no fumadores(62,3%).

En lo referente al alcohol no encontramos relación entre las características clínicas y el consumo, sí observamos que *los hombres consumen alcohol con más frecuencia y que esta relación es estadísticamente significativa* ($p<0,01$). Aunque el alcohol puede jugar un papel en la etiogénesis de la leucoplasia oral(164) no hay estudios disponibles en los que se demuestre que al eliminar el hábito alcohólico las lesiones desaparezcan(31).

V.3 ASPECTO CLÍNICO DE LA LESIÓN

En el momento del diagnóstico el 41.1% de las leucoplasias eran homogéneas y el 58,9% no homogéneas. Hay autores que encuentran proporciones similares(147,155). Pero en la mayor parte de las publicaciones la relación entre leucoplasia homogénea frente a no homogénea está invertida en referencia a nuestros resultados, en general encuentran mayor número de leucoplasias homogéneas(16,69,119,157). Llegando incluso a alcanzar diferencias tan extremas como el caso de Liu(107) que observa una relación de 15,8 leucoplasias homogéneas (301 casos) por cada lesión no homogénea (19 casos). Quizás el que tengamos tantos casos de leucoplasias no homogéneas se deba a ser un centro de referencia, a donde llegan pacientes ya diagnosticados y en algunos casos seguidos por sus odontólogos, tanto privados como pertenecientes a los Centros de Salud, y son remitidos en el momento en que se producen cambios morfológicos en la lesión. También puede deberse a que el criterio en el tratamiento y seguimiento en la Unidad Docente de Medicina Oral es llevar a cabo una biopsia en aquellas leucoplasias con cambios en el aspecto clínico y en este estudio consideramos criterio de inclusión haber realizado estudio anatomopatológico, se excluyen así leucoplasias homogéneas no biopsiadas.

Observamos también con respecto a la localización y forma clínica, que la mayor parte de las lesiones presentes en lengua son no homogéneas (el 70,6%).

Al igual que Bagán(16) no encontramos diferencias significativas en el tamaño de la lesión frente a otras variables. En el siglo pasado(165), se hacía referencia a que era necesario un tamaño mínimo de 5 mms para ser diagnosticada de leucoplasia, hoy en día no está vigente ninguna recomendación al respecto.

En cuanto al número de lesiones que presentaban en el momento del diagnóstico, encontramos leucoplasias únicas en 38 (42,2%) pacientes mientras que en 52 (57,8%), se encontraba afectada más de una localización. No encontramos diferencias al comparar las lesiones únicas o múltiples con el resto de variables, en consonancia con otros autores(16,74). Silverman(12) encuentra que el 70% de sus casos de leucoplasia aparecen en más de dos localizaciones.Sin embargo, Ishii describe mayor número de lesiones únicas(119). Tenemos que tener en cuenta que la mayoría de los estudios, analizan las lesiones a partir de una localización, sin tener en cuenta las demás localizaciones afectadas, ya que el tratamiento estadístico se hace complejo.

En nuestro estudio la localización más frecuente fue el borde lateral de la lengua (23,3%) seguido de la mucosa yugal (18,9%) y la encía (13,3%). En la literatura aparecen descritos como localizaciones más frecuentes, también el borde lateral de la lengua(107,147,166), así por ejemplo, Schepmann(111) encuentra un 60,8% de los casos en borde lateral de lengua y la segunda localización en el suelo de boca. En contraposición, otros autores describen como zona más frecuente la mucosa yugal(12,108,149,155,157). En Japón es la encía la zona más afectada (114,119).

En relación al consumo de tabaco advertimos que en los pacientes fumadores la zona más frecuente es partes inespecíficas, en nuestro caso sinónimo de mucosa yugal, y segundo lugar lengua y en los pacientes no fumadores la localización más frecuente es la lengua y en segundo lugar mucosa yugal y encía con el mismo número de casos. A pesar de ello no

encontramos diferencias estadísticamente significativas, al contrario que otros estudios en los que si relacionan el consumo de tabaco con mayor presencia de lesiones en el suelo de la boca(72,73) y los no fumadores en el borde lateral de lengua(72-74).

V.4 DATOS ANATOMOPATOLOGICOS

Se tomaron un total de 194 biopsias a los 90 pacientes, además de la biopsia inicial a algún paciente se le tomó las biopsias que consideramos oportunas, cabe destacar un paciente de los que desarrolló finalmente un carcinoma a los que se le tomaron 13 biopsias. Es importante recoger el número de biopsias practicadas a cada paciente, y realizar las biopsias necesarias durante el seguimiento(101). Liu en 2012(107) fue el primero en demostrar que el número de biopsias realizadas a cada paciente contribuye a la detección temprana de la transformación maligna.

Es poco frecuente en la literatura encontrarnos descrito el tipo de biopsia realizada a cada paciente(147), es decir, si es incisional o escisional. En nuestro caso la mayor parte de las biopsias practicadas son incisionales (62,2%). A pesar de la controversia que existe entre la práctica de un tipo u otro de biopsia(167), es importante, en lesiones de gran extensión o con múltiples localizaciones realizar las biopsias que creamos convenientes tanto a lo largo de la evolución de la lesión como en las distintas localizaciones no limitándose a una sola toma de muestra(101,168,169), ya que está demostrado que pueden existir pequeños focos de carcinoma que pueden no diagnosticarse con biopsias incisionales(170).

Por otro lado, debido al índice de recidiva que presenta la leucoplasia es quizás arriesgado el hecho de someter al paciente a cirugías extensas que generarían cicatrices innecesarias en caso de lesiones benignas o por otro lado llevar a cabo un infratratamiento en lesiones malignas si se demuestra afectación marginal y no se ha incluido un amplio margen de tejido(100). Debemos tener en cuenta que no está demostrado que ningún tipo de

tratamiento, ya sea quirúrgico, o de cualquier otro tipo consiga la curación completa de la lesión de leucoplasia(66) debido al amplio número de recidivas(105,125).

Sí es importante tener en cuenta en el momento de llevar a cabo una biopsia incisional los factores que influyen en el infradiagnóstico, que son el error en la zona de toma de muestra, y otras que están descritas en la literatura aunque nosotros no hemos evidenciado, como son, la dificultad de la preparación de la muestra en el laboratorio debido al pequeño tamaño y que la muestra sea superficial, como ocurre con las muestras tomadas con punch, e inherente a la propia gradación de la displasia, la variabilidad intrapatólogo e interpatólogo(100,170).

En nuestro estudio encontramos displasia en el 32,29% de las leucoplasias orales estudiadas, esta cifra se encuentra dentro del rango descrito en la literatura para las leucoplasias orales que es de un 5 a un 46%(40,108,108,112,155,157,171).

Y el 3,3% de ellas eran carcinomas establecidos en el momento del diagnóstico. Esto está en consonancia con otros trabajos que encuentran carcinoma en el momento de la primera visita, como Lee(155) que encuentra carcinoma inicial en el momento del diagnóstico en el 12,9% de los casos. O Waldron(171) que encuentra carcinoma en el 3,1% de la biopsias iniciales más acorde a nuestros datos. Aunque algunos autores como Jeong(170), encuentran cifras de entorno al 60%, en este caso estudia sólo lesiones localizadas en lengua y extirpa toda la lesión para poder llevar a cabo el examen completo de la leucoplasia.

V.5.- SEGUIMIENTO DE LAS LESIONES

De los 90 pacientes, el 13,3% sufre un evento maligno, la presencia inicial de carcinoma ya fue tratada anteriormente y la evolución se trata en el apartado V.7. El 27,8% de nuestros pacientes se encontraban libres de lesión en la última visita, algunos autores describen la completa remisión de la lesión en más de la mitad de la muestra, en general, ligada al cese del consumo de tabaco(24, 22, 148). En el 34,4% de los pacientes la lesión no sufre cambios, ésto apoya la visión general de que la leucoplasia es una lesión persistente(165) y a la vez dinámica ya que se observa la aparición de nuevas lesiones, en nuestro caso en el 12,2% de los pacientes la leucoplasia se extiende a otras localizaciones o aumenta su tamaño, como ya describieron otros autores(12,148).

Observamos que el 12,2% de las lesiones recurrieron en la misma localización, este índice de recurrencia se encuentra dentro del rango descrito en la literatura que lo sitúa entre 7,7 y el 38,1%(119,148,153,165). Kuribayashi(75) describe un periodo libre de recurrencia de la lesión a 5 años del 87,8% para los pacientes que presentaban márgenes libres de lesión en la exéresis y del 54,7% para aquellos en los que los márgenes seguían afectados por la lesión, a pesar de que nosotros no hemos recogido este dato por lo que no podemos valorarlo, pero vemos que es un factor a tener en cuenta en en estudio de la recurrencia.

V.6.-ESTUDIO DE LOS FACTORES DE RIESGO Y GRADO DE DISPLASIA

La valoración de la displasia epitelial se realiza de acuerdo a la combinación de los cambios arquitecturales y citológicos, que se encuentran en el epitelio(4). Esta valoración es un proceso subjetivo ya que todavía no existen parámetros cuantificables, que se puedan aplicar de forma rutinaria. Actualmente, nos basamos en los criterios histológicos de presencia y grado de displasia, para emitir un juicio clínico de riesgo de malignización de la

leucoplasia(98,121). Existe una amplia variabilidad intra e interobservador en el diagnóstico y gradación de la OED(92,96). Pero esto no ocurre solamente en la displasia oral sino que también ha sido descrito en otras localizaciones(172-175) y los problemas planteados son de la misma índole. Actualmente se recomienda el uso de sistemas binarios (bajo/alto), para reducir esta variabilidad descrita en la literatura, ya que se obtiene una mejor concordancia entre patólogos, cuando el sistema de gradación se reduce a dos valores(95,176).

La histopatología, que detecta la presencia de displasia en una lesión de leucoplasia y la gradúa, es usada como una herramienta clínica para predecir el riesgo de transformación maligna y a menudo guía el manejo clínico de las lesiones. La mayor parte de las veces se monitorizan las lesiones de displasia leve y se extirpan las severas(94).

Para el estudio del grado de displasia consideramos 2 grupos bajo riesgo y alto riesgo. El primero incluye las lesiones con ausencia de displasia y la displasia leve y el alto riesgo incluye las lesiones severas, moderadas y carcinoma. Al igual que Lee(135), que encuentra un riesgo de 2,3 de desarrollo de cáncer en las lesiones de alto riesgo

Decidimos agrupar la gradación en bajo y alto riesgo, porque como observamos en el estudio de calibración de las valoraciones anatomopatológicas, el índice de concordancia kappa subió de un 60% a un 80% de concordancia en el mismo patólogo. Resultados similares los encontramos en la literatura, en el que se demuestra que al transformar en binaria la clasificación del grado de displasia aumenta el grado de concordancia intra/inter patológos alcanzando niveles entorno al 80%(95,176). En nuestro caso, pasamos de un nivel de concordancia moderado a bueno cercano al muy bueno siguiendo la clasificación de Landis y Koch(177). Lo que justifica el uso del sistema binario.

Los factores de riesgo considerados en el estudio son aquellos conmúnmente asociados con riesgo de transformación maligna de leucoplasias orales de largo plazo(12,13,111), como son hábitos como alcohol y tabaco, la

edad, el sexo, en lo referente a la lesión, la localización, forma clínica, tamaño, número de lesiones y por último el grado de displasia.

No encontramos diferencias al comparar las medias de edad ni el sexo del grupo que presenta displasia de bajo y alto grado. Este resultado contrasta con otros autores como Lummerman(148) que observa un mayor número de displasia de alto grado en hombres que en mujeres y Lind(112) a pesar de encontrar mayor prevalencia de leucoplasia en hombres, observa una relación estadísticamente significativa entre la displasia y el sexo, el 38,8% de las mujeres presentaban displasia frente al 20,2% de los hombres. Banozcy(108) encuentra en el grupo de displasia una relación hombre mujer de 6,5 a 1, frente al índice de 3,1 a 1 que describe para el grupo general. Otros artículos que tratan sólo de lesiones displásicas sin especificar las lesiones clínicas encuentran una media de edad entre los pacientes con displasia de 63 años(103), similar a la de presentación de leucoplasia.

En relación al tabaco, observamos un mayor riesgo (el doble) de padecer una displasia de alto grado en los no fumadores frente a los fumadores. En la literatura encontramos descrito un aumento del riesgo entre los fumadores, como en el trabajo de Morse(26) que describe un riesgo de 3,8 veces de padecer mayor grado de displasia en fumadores frente a no fumadores y observa cómo al dejar el hábito disminuye también el riesgo de displasia.

En lo que se refiere al consumo de alcohol no encontramos en nuestro grupo de pacientes relación con el tipo de displasia, al aplicar el test de regresión logística binaria observamos el doble de riesgo de padecer displasia de alto grado entre los consumidores de alcohol, al igual que Morse(26), pero éste lo relaciona con la cantidad consumida y nosotros no tenemos suficientes datos para realizar ese análisis. En el estudio de Lee(155) también observa al llevar a cabo un análisis de regresión logística binaria que la displasia está en relación con el consumo de alcohol, pero al aplicar el test de Cox multivariante pierde la significación. Sin embargo, la relación entre estos dos factores no está clara en la literatura, hay autores que lo asocian a la presencia de displasia

solo o conjuntamente con el tabaco(87,178) y otros no encuentran relación(147).

En nuestro grupo de lesiones obtenemos también una relación estadísticamente significativa al comparar el grado de displasia y la forma clínica, más concretamente la forma no homogénea tiene mayor tendencia a un mayor grado de displasia. Sin embargo, el valor OR que obtenemos cuando realizamos el análisis de regresión logística para el subtipo clínico y el grado de displasia es muy elevado. En este caso la estimación del modelo no es robusta quizás debido a que en la muestra no hay lesiones homogéneas que presenten alto grado de displasia. Esta relación entre la forma no homogéna y la displasia se refleja en otros estudios (12,108,111,112). Lee(155) considera la forma clínica como un indicador de mayor posibilidad de presencia displasia en leucoplasia oral, y en las lesiones no homogéneas observa un riesgo de padecer displasia 5,69 veces mayor que en las lesiones homogéneas. En esta línea Feller(157) encuentra que la forma homogénea de la leucoplasia está asociada a frecuencia muy baja de displasia. Y Lind(112) encuentra una mayor presencia de displasia moderada y severa en la forma nodular de leucoplasia. Banoczy(108) encuentra que de la leucoplasias con displasia en su estudio sólo el 18,4% eran homogéneas. A pesar de esta asociación entre leucoplasia no homogénea y presencia de displasia no debemos olvidar que la forma clínica varía a lo largo del seguimiento de las lesiones, en algunos casos asociado a sobreinfección candidiásica(165) y en otros casos sin que exista un factor relacionado(12) y que se pueden transformar. De hecho en este estudio encontramos una lesión homogénea que se maligniza con el paso de los años.

No observamos diferencias entre el número de lesiones presentes en la visita inicial ni el tamaño y el grado de displasia, hay pocos estudios que valoren la relación entre el grado de displasia y el tamaño de la lesión, Saito (179) clasifica la displasia siguiendo a Banoczy, en leve o severa, vendría a ser como alto y bajo riesgo de Kujan(95) y encuentran un menor porcentaje de displasia severa en las lesiones amplias pero no encuentra diferencias en el grado de displasia y las lesiones únicas y multiples.

Al estudiar la asociación entre la localización y el grado de displasia (bajo/alto) hemos encontrado relación estadísticamente significativa para la localización en lengua y al hacer el análisis de regresión logística encontramos un riesgo (OR) 12 veces mayor de padecer lesión de alto grado de displasia en la lengua. Esto está en consonancia con otros autores que también observan mayor presencia de displasia en lengua(148,171). Waldron(171) observa una mayor incidencia de displasia severa o carcinoma in situ en el borde de la lengua (24%) y en el suelo de la boca(42,9%). Lee(155) encontró un riesgo 1,84 de padecer displasia en lengua y encuentra relación estadística entre la displasia y la localización. Banoczy(108) sin embargo, encuentra un mayor número de casos de displasia en mucosa bucal ocupando el tercer lugar en frecuencia la lengua, pero se produce mayor transformación maligna en la zona de la lengua y el suelo de la boca. Encuentra también una predisposición a la presencia de displasia asociada a la lengua en mujeres.

Se ha asociado la tendencia de lesiones de leucoplasia en zonas de alto riesgo con la presencia de alteraciones genéticas (76,180) quizá debido a una mayor exposición y penetración de los carcinógenos como consecuencia de su estructura anatómica (181), ya que el epitelio es más fino(182) que en las zonas denominadas de "bajo riesgo" o bien por su posición ya que la lengua y el suelo de la boca podrían estar expuestos a carcinógenos disueltos en la saliva (180).

Otros autores que estudian lesiones displásicas orales en otras lesiones potencialmente malignas, también encuentran una mayor incidencia de displasia en la lengua (136,142,148,171,178). Dost en un estudio reciente (136) sobre displasia oral sin considerar la lesión de la que provienen encuentra que de 385 displasias evaluadas la mitad de ellas están en la lengua, y también encuentra que es una zona de elevada transformación maligna aunque no encuentra relación estadísticamente significativa entre la localización y la transformación.

V.7.-ESTUDIO DE SUPERVIVENCIA

La mayoría de las lesiones de leucoplasia, son lesiones benignas. Un porcentaje de éstas, adquieren cambios displásicos progresivos (135) y por último desarrollan un carcinoma. Todavía a día de hoy no tenemos ningún medio a nuestro alcance para predecir cuál de ellas va a malignizarse (109,118).

El índice de transformación maligna, cuando se evalúan de forma conjunta todas las leucoplasias, independientemente del grado de displasia que presenten en el momento del diagnóstico varía ampliamente desde 0,13% a 17,9% (12,104-108). En nuestro estudio, 7 de los 85 pacientes sufrieron transformación maligna lo que representa un índice de transformación del 8,2%, que se encuentra dentro de los parámetros anteriormente descritos. Otros autores encuentran índices similares como Amagasa (70) con un índice de 7,9% considerando las lesiones con y sin displasia.

Si consideramos únicamente los pacientes que presentaban lesiones sin displasia inicial nos encontramos que 2 de ellos desarrollan una transformación maligna siendo el índice de transformación de 3.4%. Sin embargo, si consideramos sólo los pacientes con lesiones de leucoplasia con displasia entonces tenemos un índice de transformación de 19.2%. (5 de 26 pacientes) similar al hallado por Lummerman (148) con un 16%. Pero en general aquellos autores que valoran sólo lesiones displásicas encuentran índices más altos que nosotros. Liu(152) de 26,8%; Ho(183) de 24,2% incluso de hasta el 36% en el caso de Silverman(12). Otros como Lee(155) obtiene un índice de 31,4% y un tiempo medio de seguimiento de 10 años, pero no excluyen a los pacientes con antecedentes previos de cáncer lo que podría explicar la tasa tan elevada.

Los índices de transformación más altos referenciados están en relación con formas clínicas determinadas como es la leucoplasia verrucosa proliferativa, que llega a alcanzar hasta el 70.3%(55).

La tasa de transformación maligna anual que resulta es del 2%, que se encuentra dentro del rango anual mundial descrito por Petti (10) en 2003, que

tras llevar a cabo una revisión sistemática obtiene que es del 1,36%(0,69-2,03 IC95%). Scheifele lo sitúa en el 1%(184). Otra revisión de 14 estudios reporta una transformación anual más baja de 0,06%(0,04-0,07)(114).

En lo referente al tiempo medio de seguimiento en nuestro grupo fue de 4.14, mientras que en los que sufrieron transformación maligna fue de 5,58 años. Podemos concluir con estos resultados, al igual que ha sido demostrado en otros estudios(12,111), que cuanto mayor es el tiempo de seguimiento mayor es el riesgo de transformación a carcinoma. Autores como Silverman (12) encuentran un índice de transformación de 6% en su primera investigación y al aumentar los años de seguimiento aumenta al 17,5%. Lummerman(148) observa en las lesiones displásicas una transformación en 33,6 meses y Ho MW(185) observa un tiempo medio de seguimiento desde la primera visita hasta la transformación de 48 meses.

Además en nuestro caso, la mayor parte de las transformaciones malignas tienen lugar después de los 5 años de seguimiento como podíamos observar en la curva de supervivencia de la figura 4.15 de resultados. Autores como Ho(185) encuentran una tasa de transformación maligna a los 5 años del 22%, éste sólo estudia lesiones con displasia de ahí que su índice sea más elevado.

Sin embargo, es importante destacar que hemos registrado en nuestro estudio dos pacientes con leucoplasia sin displasia que se malignizan con el tiempo por lo que debemos considerar que la ausencia de displasia al inicio no garantiza que la lesión no evolucione hacia un carcinoma.

En la tabla VII.1 presentamos referenciados los estudios que describen los índices de transformación maligna que estudian lesiones únicamente de leucoplasia, diferenciando aquellos que estudian las que inicialmente presentaban displasia o si por el contrario eran lesiones sin displasia, indicando el número de pacientes incluidos en el estudio así como el tiempo medio de seguimiento que ya hemos visto es importante considerarlo a la hora de evaluar los los datos.

Tabla VII.1.-Porcentajes de transformación maligna de la leucopolasia oral

		Leucoplasia con displasia		Leucoplasis sin displasia		
Referencia	País	Nº de pacientes	Transformación maligna (%)	Nº de pacientes	Transformación maligna (%)	Seguimiento
Einhorn 1967(120)	Suecia			782	31 (4%)	1-20
Pindborg 1968 (165)	Dinamarca			248	11(4,4%)	1-9
Gangadharan 1971(154)	India			626	63(10%)	1-19
Silverman 1976(104)	India			4762	6(0,13%)	2
Banoczy 1977(108)	Hungria	161	21(13%)	509	24(4,7%)	9,8 (1-30)
Pindborg 1977(186)	India	61	4(6,6%)			>7
Silverman 1984(12)	EEUU	22	8(36,4%)	235	23(9,8%)	8,1
Lind 1987(112)	Noruega			157	14(8,9%)	9,3
Lummerman 1995(148)	EEUU	44	7(16%)			7-113 meses
Schepmann 1998(111)	Paises bajos			166	20(12%)	Media 2,7
Shiu 2000(160)	Taiwan			435	60(13,8%)	-
Saito 2001(114)	Japón	91	7(7,7%)	51	4(7,8%)	Media4(7-16)
Holmstrup 2006(69)	Dinamarca			254	15(5,9%)	Media 6,8
Amagasa 2006(70)	Japón	210	28(13,3%)	234	7(3%)	1-29
Liu 2010(106)	China	218	39(17,9%)		(%)	Media 5,3
Liu 2012(107)	China	320	57(17,8%)			5,1 (1-20)
Brouns 2013(147)	Holanda			144	16(11,1%)	(1-15)

De los 7 pacientes que sufrieron transformación maligna, el carcinoma se desarrolla en zonas de lesiones previas excepto en un caso en donde la leucoplasia aparece en borde lateral de lengua y el carcinoma se desarrolla en reborde alveolar contralateral y no existía lesión previa. Otros dos casos donde la biopsia inicial se toma en una localización y se desarrolla el carcinoma en otra diferente pero afectada de leucoplasia. Algunos autores describen tambien malignizaciones a distancia de las zonas afectadas por leucoplasias sobre mucosa oral de aspecto normal(146,148) .

La mayor parte de los estudios describen casos de aparición de carcinoma alejada de las lesiones de leucoplasia descritas inicialmente(111,135,148). Lee(135) en su estudio sobre pacientes con leucoplasia incluye pacientes con historia previa de cáncer en tracto aerodigestivo superior y observa en los dos grupos el desarrollo de carcinomas alejados de la lesión inicial de leucoplasia, en 9 de 15 y 9 de 22 casos respectivamente, esto representa el 41% de los casos. Roosar(156) observa que los 3 pacientes que desarrollan cáncer en su estudio lo hacen en localizaciones diferentes a las de la lesión inicial. Esto puede ser explicado por la teoría de cancerización de campo(187), según la cual, cualquier área de la mucosa expuesta a carcinógenos puede desarrollar cambios premalignos. Incluso Thomson(188) encontró en 15 pacientes zonas displásicas en áreas alejadas de la lesión inicial y con apariencia de mucosa oral normal. En contraposición a nuestros resultados, Brouns(147) describe que todos los carcinomas surgieron en la misma localización que la leucoplasia inicial.

Resulta muy difícil la valoración de la evolución de las leucoplasias sobre todo en aquellas que afectan a múltiples localizaciones, a la hora de recoger el seguimiento de cada una de las lesiones al ser la leucoplasia en estos casos una lesión potencialmente maligna de alto riesgo. Todo esto nos hace pensar en la importancia del seguimiento exhaustivo de estos pacientes y la necesidad de observar con detenimiento cualquier cambio que se produzca en cualquier área de la cavidad oral esté afectada o no por lesiones de leucoplasia.

El periodo libre de transformación maligna o OCFs (Oral Cancer Free survival) nos indica el porcentaje de lesiones que se esperan no se hayan transformado en un determinado momento del seguimiento. En nuestro caso el porcentaje de tiempo libre de transformación maligna fue a los 5 años de 96.3 (0.021) y a los 11 de 73.9 (0,122). Este es el porcentaje de pacientes que no han desarrollado carcinoma. Pocos son los artículos que calculan el índice de transformación en OCFs, que sería lo ideal para comparar poblaciones, deberiamos tener en cuenta el tiempo de seguimiento que hacemos a los pacientes de forma que el índice de transformación maligna sea dependiente de tiempo-persona. En la tabla VII.2 incluimos los OCFs que pudimos extraer

de los diferentes artículos. Podemos ver como a medida que aumenta el tiempo de seguimiento aumenta el número de transformaciones malignas. De los artículos revisados solamente el de Liu(107) habla de periodo libre de transformación maligna como nosotros, el resto habla de período de transformación maligna, éste diferencia cuando las lesiones iniciales son de bajo riesgo o de alto riesgo y encuentra una mayor malignización entre las lesiones de alto riesgo. Nosotros encontramos porcentaje libre de enfermedad a los cinco años mucho mayor en relación a los otros autores porque consideramos todas las lesiones tengan o no displasia y el resto considera sólo lesiones con displasia.

Tabla VII.2.-Superviviencia libre de transformación maligna de leucoplasia oral

Autor	PACIENTES	OCFS (oral cancer free survival)				
		2 años	3 años	5 años	10 años	11 años
Liu(107)	320		86,6%	82% Bajo riesgo: 90.6% * Alto riesgo: 61.7% **		
Ho MW(185)		12% (SE 4%) 88%***		22% (SE5%) 78%***		
Silverman(12)	275	5% de malignizaciones 95%**				
Nuestro estudio				96,3%		73,9%

* (95%IC 0,86-0,96)
** (95%IC 0,44-0,80)
*** Valor estimado calculado en función de los datos que aporta el estudio de transformación maligna a los 2 años y a los 5 años

La edad media al final del seguimiento es de 64,14(IC95%(53,76-74,53)) para el grupo que desarrolla carcinoma y la edad media en el grupo que no desarrolla el evento al final del seguimiento es de 62,69 (IC95% (59,68-65,69)). No observamos diferencias entre la edad media del grupo que desarrolla carcinoma y los que finalizan el seguimiento sin sufrir el evento en consonancia con otros estudios(12,106,112,147,148,185). En contraposición hay autores que sí observan una relación entre la transformación maligna y el grupo de más edad(70,111,135).

A pesar de que la incidencia en cuanto al sexo, en la muestra general es similar entre hombres y mujeres, al igual que ocurre en otros

estudios(11,106,148,152), este índice se invierte a 1:1,3 (hombre/mujer) cuando observamos los casos que se malignizaron, 4 mujeres y 3 hombres. Al igual que otros autores no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la malignización con respecto al sexo(107,114,147) pero sí una mayor proporción de mujeres que desarrollan carcinoma, situación inexplicable que ya ha sido reportado en otras ocasiones (12,70,106,112,146,147).

El tabaco es el factor etiológico más importante asociado a la leucoplasia y es reconocido como agente carcinógeno, sin embargo, se observa un mayor riesgo de malignización en las leucoplasias idiopáticas, es decir, aquellas en las que se desconoce la causa que induce su aparición.

En nuestra población de estudio no encontramos relación estadísticamente significativa en lo que respecta al consumo de tabaco y la malignización a largo plazo, de los 7 pacientes 6 eran no fumadores y sólo uno era fumador y observamos que el riesgo de desarrollar un carcinoma en un paciente no fumador es 5,41 ORs (IC95%) mayor que el fumador. Esto está en consonancia con lo observado por otros autores que describen un mayor riesgo de transformación entre los pacientes no fumadores, sin encontrar que esta diferencia sea significativa(12,12,107,120,160). Einhorn(120) encuentra un riesgo 8 veces mayor para los no fumadores. Otros autores, como Shiu(160) encuentra relación entre el tabaco y la transformación pero se pierde al hacer el análisis de regresión multivariado. Ho(185) en 2012 sí encuentra aplicando el test de regresión de Cox que el consumo de tabaco sí es una variable independiente en la transformación, y observa un riesgo 7,1 veces mayor en los pacientes no fumadores. Parece que el tabaco favorece el desarrollo de leucoplasia pero una vez establecida no promueve la transformación maligna.

En nuestra muestra no encontramos relación entre el consumo de alcohol y la transformación maligna. Sí encontramos un riesgo más elevado de transformación maligna en los bebedores, de 1,44 pero no significativo. El papel carcinógeno del alcohol de forma independiente y en sinergia con el tabaco está demostrado(28). Pero en otros estudios de transformación tampoco se encuentra relación con la evolución a malignidad(106,111,147,156)

registren o no la cantidad de alcohol consumida o sólo la condición de bebedor o abstemio.

En cuanto a la forma clínica de presentación, al igual que otros autores(70,165) a pesar de encontrar un predominio de lesiones no homogéneas que se transforman en nuestro caso 6 no homogéneas frente a 1 homogénea, ésta relación no es significativa(112,147). Esto contrasta con lo observado por otros autores que sí encuentran relación estadísticamente significativa entre la forma clínica y la transformación maligna(107,111,155). Al aplicar el análisis de regresión logística bivariado, obtenemos un riesgo de transformación maligna de la forma no homogénea de 4,88 (IC95%), ligeramente menor que el encontrado por otros autores(108), como Holmstrup(69) que estudia una muestra de 236 pacientes y aplicando un análisis de regresión logística, obtiene un aumento de 7 veces el riesgo de transformación maligna de la forma no homogénea y sí confirma la relación estadística, mientras que Napier (146) en el 2003 observa un riesgo de 6,6 en las leucoplasias no homogéneas en una población de 50 pacientes y también encuentra relación estadísticamente significativa con la transformación maligna, que se pierde al aplicar el modelo de regresión logística de Cox. Como vemos nuestros valores de riesgo son similares a otros estudios. Sin embargo en la literatura encontramos cifras de riesgo muy altas, como el caso de Lee(155) que encuentra la forma clínica como un indicador de mayor posibilidad de presentar un carcinoma, advierte que en las lesiones no homogéneas el riesgo de padecer carcinoma es de 28,13 veces mayor que en las homogéneas.

En nuestro estudio, al recoger solamente pacientes biopsiados en la primera visita, no tenemos datos de las leucoplasias homogéneas que no se han biopsiado pero sí desarrollan carcinoma a lo largo del seguimiento, al contrario que otros autores como Schepman(111) que incluye en su muestra tanto lesiones clínicas de leucoplasia sin estudio anatomopatológico y encuentra que 2 de los 39 pacientes con leucoplasias homogéneas se transforman. Por eso es importante, el seguimiento exhaustivo de todas las lesiones de leucoplasia, sean homogéneas o no homogéneas ya que como hemos visto las dos son susceptibles de sufrir una transformación maligna.

En pocos estudios(114,146) se recoge si la lesión afecta a una localización o varias, en nuestro caso no encontramos diferencias significativas en lo relativo a malignización y número de lesiones presentes. Sin embargo, otros autores si encuentran relación estadísticamente significativa(146,179). El riesgo de transformación maligna en nuestro análisis, es prácticamente el mismo para las lesiones únicas o múltiples, sin embargo, otros autores si observan un mayor riesgo, Napier(146) diferencia entre lesiones de gran tamaño que confluyen y describe para ellas un riesgo 6 veces mayor que las únicas, y por otro lado, encuentra que las lesiones múltiples tienen un riesgo de 4 veces mayor que las únicas. Saito(179) considera lesiones localizadas y lesiones que afectan a múltiples localizaciones pero no calcula el OR sólo refiere una mayor relación con la malignización. En un trabajo posterior observa un 6,3% de malignización para lesiones amplias frente al 0,6% en las localizadas(114).

Para el estudio de supervivencia transformamos la variable tamaño en 2 grupos, mayor y menor de 2 cms, cómo la recogida de datos se llevó a cabo siguiendo la clasificación de Van der Waal en tres grupos, también relacionamos la transformación maligna en referencia a los 3 tamaños y no encontramos de ninguna de las dos formas relación estadísticamente significativa. Sin embargo, en la literatura sí se describe esta asociación como estadísticamente significativa entre lesiones de más de 200mm^2(69,185) y en lesiones de más de 4 cms(147), y la transformación maligna. Ho(185) aunque describe el tamaño de la leucoplasia como estadísticamente significativo cuando se comparan los índices de transformación, al aplicar el test de regresión de Cox pierde la significación.

En relación a la localización debemos tener en cuenta que la mayoría de los OSCC surgen del suelo de la boca, el paladar blando y la cara ventral/borde lateral de lengua(182). Además se ha descrito que los epitelios que recubren las zonas de alto riesgo de cancerización, como son los bordes laterales de lengua y suelo de boca, están asociados a displasia con más frecuencia(76,171). Esta tendecia a displasia en zonas de alto riesgo se ha asociado con la adquisición de alteraciones genéticas (como pérdida de

heterocigosidad LOH en 3p y/o 9p) con elevado riesgo de progresión(180). Algunos autores incluso recomiendan que el seguimiento y manejo de estos pacientes con lesiones en la lengua deberían recibir una atención especial, ya que encuentran alteraciones como aneuploidia de ADN(117) y CNAs (copias de ADN aberrantes) con más frecuencia que en otras localizaciones(76)

De los 7 pacientes que desarrollan carcinoma en nuestra muestra 5 se localizan en lengua, uno en paladar y otro en encía, todas ellas aparecen descritas en la literatura como zonas de alto riesgo de transformación maligna, sin embargo, en nuestra muestra, no encontramos ninguna transformación maligna en suelo de boca, en este aspecto, algunos autores no encuentran asociación definitiva entre una localización intraoral precisa y el riesgo de transformación maligna(69,111,147,153,165), por ejemplo, Brouns(147) realiza una descripción exhaustiva de su grupo de 144 pacientes, y lleva a cabo diferentes agrupaciones, por un lado compara la malignización en cada una de las localizaciones siguiendo la clasificación ICD, obteniendo un valor P=0,086. También hace la comparación agrupando como nosotros las lesiones en lengua y suelo de boca y otras localizaciones y resulta un valor P=0,144 y de ninguna de las formas obtiene significación estadística. Otros autores, observan un aumento de incidencia de carcinoma sobre leucoplasia situada en la lengua (12,70,106,112,114,155,171), en el suelo de la boca(12,171), y en mucosa yugal, pero esta última se encuentra sobre todo en relación con hábitos como mascar tabaco en países como la India(104,115) sin embargo estos hábitos que no son frecuentes en España. Nosotros, observamos, al aplicar el test Chi-cuadrado que las lesiones que aparecen en la lengua están estadísticamente relacionadas con la transformación maligna pero cuando aplicamos el test log Rank de comparación de curvas Kaplan-Meier esta significación desaparece con un valor P=0,058. A pesar de que haya una mayor incidencia de transformación en lesiones en lengua, la localización no es un factor independiente para la transformación. En contraposición a lo que encuentra Liu(152), que sí registra una relación estadísticamente significativa y relacionan claramente la presencia de leucoplasia en lengua como factor independiente para sufrir una transformación maligna.

Lee(155) encuentra que la localización tiene alto impacto en el riesgo de carcinoma. Encontró un riesgo 2,72 veces mayor de carcinoma en lengua con respecto a las otras localizaciones.

Tenemos que tener en cuenta que la lengua es considerada como una zona de alto riesgo de transformación maligna, por lo tanto tenemos que prestar especial atención a las lesiones que asientan sobre estas zonas y recomendar revisiones con más frecuencia. Jeong(170) en un estudio que lleva a cabo sobre borde lateral de lengua exclusivamente, encuentra que el 59,1% de las muestras ya existía presencia de carcinoma, y cree que el infradiagnóstico asociado puede ser debido a varios factores, el error de toma de muestra en una zona equivocada, error en la preparación de la muestra debido al tamaño o bien una biopsia superficial asociada con frecuencia a la biopsia con punch.

En nuestro estudio las lesiones localizadas en la lengua tenían un índice de supervivencia (no transformación) según el método Kaplan Meier estimado a 11 años de 46,9%, esto quiere decir que se espera a los 11 años de seguimiento que más de la mitad de las leucoplasias situadas en lengua sufran una transformación maligna frente al 75% cuando consideramos las otras localizaciones. En el estudio de Ho MW(185), sólo valora lesiones con displasia, y obtiene un valor Kaplan Meier de 53% de transformación maligna a los 5 años para las leucoplasias situadas en lengua. Nosotros obtenemos valores similares pero a los 11 años, esto puede ser debido a que incluimos en nuestro estudio pacientes con y sin displasia y como pudimos ver anteriormente, se produce índices mayores de transformación maligna cuando se consideran sólo lesiones que presentan algún grado de displasia.

Cuando valoramos la ausencia o presencia de displasia y la malignización a lo largo del tiempo encontramos diferencias estadísticamente significativas al igual que en otros estudios(70,134). Recientemente se han encontrado resultados contradictorios al no observar asociación entre displasia epitelial y transformación maligna empleando la misma consideración (69,103,114,147).

La presencia de displasia fue el único factor de riesgo independiente para transformación maligna de leucoplasia oral que encontramos en nuestro estudio, ya que el otro factor de riesgo era la localización y al aplicar el *test log rank* desaparece la relación. Encontramos que dos pacientes que inicialmente no presentaban displasia se transforman con el paso del tiempo, al igual que en otros estudios como el de Saito(114) que advierten que 2 pacientes de los 51 del grupo sin displasia desarrollan carcinoma, o Schepman(111) que encuentra la misma situación en 6 pacientes sin displasia inicial. Amagasa(70) registra el desarrollo de carcinoma en 7 de 234 pacientes con leucoplasia sin displasia. Esto nos hace recapacitar sobre la importancia del seguimiento a largo plazo de estos pacientes con lesiones potencialmente malignas como es la leucoplasia.

Existen autores que clasifican la displasia en alto y bajo grado y encuentran relación estadísticamente significativa entre el grado de displasia y la malignización(106,134,189). Y algunos observan una mayor incidencia de transformación maligna en pacientes con alto grado de displasia (12,86,111,142,152). Incluso se recoge que durante los 2-3 años siguientes al diagnóstico de este tipo de displasia severa o moderada es más frecuente la transformación (12,70,106,107,183). Lee(135), encontró un riesgo 2.3 veces mayor de desarrollo de cáncer en pacientes con lesiones displásicas de alto riesgo (moderada/severa) frente a las de bajo riesgo.

En nuestro caso tenemos pocos casos de lesiones con displasia para poder hacer estudio comparativo entre los distintos grados, aunque hay autores que no encuentran diferencias entre los diferentes grados de displasia(70,103,141,148,185). Otros autores describen un alto índice de transformación en pacientes que exhibían una historia de hiperplasia epitelial solamente:(69,141,147,183)

Silverman en EEUU también reporta en un estudio de seguimiento de leucoplasia oral, que la displasia aumentó el riesgo de transformación maligna, en el que hallan que el 36% de los pacientes con displasia tuvieron carcinoma frente al 15,7% de los pacientes sin displasia(12).

Un reciente metaanálisis en el que se estudian las lesiones con displasia en las lesiones potencialmente malignas en general, en este caso no estudian solo lesiones leucoplásicas, observan un índice de 12.1% de media(140)

En algunos casos se valora solamente la presencia de displasia, eliminando del estudio aquellos casos que no la presentan(148). Creemos que es importante la inclusión de todas las muestras tanto las lesiones de leucoplasia con presencia de displasia como aquellas que no tienen displasia, para conocer la historia natural de la enfermedad.

Muchos de los trabajos publicados sobre displasia estudian muestras de biopsias y no hacen distinción entre las lesiones potencialmente malignas, incluyendo dentro del estudio, reacciones liquenoides, liquen, lupus, lesiones ulcerosas y fibrosis oral submucosa. Esto es debido a que en la mayoría de los casos los trabajos se llevan a cabo en los laboratorios sin contrastar con los datos de seguimiento clínicos. La importancia y valor de nuestro trabajo radica en la colaboración conjunta con el servicio de Anatomía Patológica que nos permite acceder por un lado a toda la información histológica y por otro a la historia clínica y registros clínicos (fotografías) del paciente archivados durante todo el seguimiento del paciente en la Unidad Docente de Medicina Oral. De ahí que muchos de los estudios públicados no incluyan la apariencia clínica, el número de lesiones o el tamaño. De hecho, únicamente en 4 artículos se describen todas las variables analizadas en nuestro estudio (69,146,147,185) en relación con leucoplasia. Todo esto hace muy difícil la comparación de los estudios ya que en la mayor parte de los trabajos sobre displasia oral los resultados no se encuentran separados y no se puede extraer los datos de los casos de leucoplasia de forma independiente para comparar.

VI. CONCLUSIONES



USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

VI. CONCLUSIONES

1.- Las características clínico-patologicas de leucoplasia estudiada en nuestra área son acordes a las encontradas por otros autores de paises de Europa Occidental.

2.- Los factores de riesgo relacionadas estadísticamente con la presencia de alto grado de displasia.son la localización en lengua y la forma clínica no homogénea

3.- Existe el doble de riesgo en los pacientes no fumadores de presentar un alto grado de displasia frente a los fumadores

4.- El grado de concordancia existente entre nuestros patólogos, varía de un nivel moderado a bueno cuando empleamos el sistema binario de clasificación de displasia.

5.- Encontramos que los pacientes no fumadores tienen un riesgo 5,4 veces mayor que los fumadores, y las lesiones no homogéneas un riesgo de casi 5 veces frente a las homogéneas de desarrollar un carcinoma.

6.- El único factor asociado claramente con la transformación maligna es la presencia de displasia de cualquier tipo ya sea leve, moderada o severa. Sin olvidar que lesiones que en principio no presentan ninguna característica displásica también se transforman.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

VII. BIBLIOGRAFÍA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

VII.-Bibliografía

(1) Pindborg JJ, Reichart PA, Smith CJ, Van der Waal I. World Health Organization: Histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa. second ed. Berlin: Springer; 1997.

(2) van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. Oral Oncol 2009 5;45(4-5):317-323.

(3) Warnakulasuriya KA, Ralhan R. Clinical, pathological, cellular and molecular lesions caused by oral smokeless tobacco--a review. J Oral Pathol Med 2007 Feb;36(2):63-77.

(4) Gale N, Pilch BZ, Sidransky D, El Naggar A, Westra W, Califano J, et al. epithelial precursor lesions. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. world health organization classification of tumours. Pathology and genetics. Head and neck tumours. 1ª ed. Lyon: IARC Press; 2005. p. 177-179.

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

(6) Martínez-Sahuquillo A, Martínez-Sahuquillo JM, Velasco E. Leucoplasia Oral. In: Ceballos A, Bullon P, Gandara JM, Chimenos E, Blanco A, Martínez-Sahuquillo A, et al, editors. Medicina Bucal Práctica. primera ed. Santiago de Compostela: DANU; 2000. p. 205-218.

(7) Kramer IR, Lucas RB, Pindborg JJ, Sobin LH. Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1978 Oct;46(4):518-539.

(8) Axell T, Holmstrup P, Kramer IRH, Pindborg JJ, Shear M. International seminar on oral leukoplakia and associated lesions related to tobacco habits. Community Dent Oral Epidemiol 1984 Junio;12(3):145-212.

(9) Axell T, Pindborg JJ, Smith CJ, van der Waal I. Oral white lesions with special reference to precancerous and tobacco- related lesions: conclusions of an international symposium held in Uppsala, Sweden, May 18-21 1994. International Collaborative Group on Oral White Lesions. J Oral Pathol Med 1996 Feb;25(2):49-54.

(10) Petti S. Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review. Oral Oncol 2003 Dec;39(8):770-780.

(11) Chandran R, Meer S, Feller L. Oral leukoplakia in a South African sample: a clinicopathological study. Oral Dis 2012 Nov 7.

(12) Silverman S,Jr, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. Cancer 1984 Feb 1;53(3):563-568.

(13) van der Waal I, Schepman KP, van der Meij EH, Smeele LE. Oral leukoplakia: a clinicopathological review. Oral Oncol 1997 Sep;33(5):291-301.

(14) Neville BW, Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. CA Cancer J Clin 2002 Jul-Aug;52(4):195-215.

(15) Alvarez M, Gándara J, Gándara P, Blanco A, García A, Blanco J. Estudio de la incidencia y localización de la leucoplasia bucal. Arch Odontoestomatol 1997;13(9):543-554.

(16) Bagán JV, Vera F, Milián M, Peñarrocha M, Silvestre F, Sanchís J. Leucoplasia oral:estudio clinico-patológico de 110 casos. Arch de Odontoestomatol 1993;9(3):127-138.

(17) Escribano-Bermejo M, Bascones-Martinez A. Leucoplasia oral: conceptos actuales. Arch Odontoestomatol 2009;25(2):83-97.

(18) Napier SS, Speight PM. Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. J Oral Pathol Med 2008 Jan;37(1):1-10.

(19) Oakley E, Demaine L, Warnakulasuriya S. Areca (betel) nut chewing habit among high-school children in the Commonwealth of the Northern Mariana Islands (Micronesia). Bull World Health Organ 2005 Sep;83(9):656-660.

(20) Chung CH, Yang YH, Wang TY, Shieh TY, Warnakulasuriya S. Oral precancerous disorders associated with areca quid chewing, smoking, and alcohol drinking in southern Taiwan. J Oral Pathol Med 2005 Sep;34(8):460-466.

(21) Baric JM, Alman JE, Feldman RS, Chauncey HH. Influence of cigarette, pipe, and cigar smoking, removable partial dentures, and age on oral leukoplakia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982 Oct;54(4):424-429.

(22) Martin GC, Brown JP, Eifler CW, Houston GD. Oral leukoplakia status six weeks after cessation of smokeless tobacco use. J Am Dent Assoc 1999 Jul;130(7):945-954.

(23) van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; present concepts of management. Oral Oncol 2010 Mar 20.

(24) Roed-Petersen B. Effect on oral leukoplakia of reducing or ceasing tobacco smoking. Acta Derm Venereol 1982;62(2):164-167.

(25) Kulasegaram R, Downer MC, Jullien JA, Zakrzewska JM, Speight PM. Case-control study of oral dysplasia and risk habits among patients of a dental hospital. Eur J Cancer B Oral Oncol 1995 Jul;31B(4):227-231.

(26) Morse DE, Katz RV, Pendrys DG, Holford TR, Krutchkoff DJ, Eisenberg E, et al. Smoking and drinking in relation to oral epithelial dysplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1996 Oct;5(10):769-777.

(27) Fioretti F, Bosetti C, Tavani A, Franceschi S, La Vecchia C. Risk factors for oral and pharyngeal cancer in never smokers. Oral Oncol 1999 Jul;35(4):375-378.

(28) Goldstein BY, Chang SC, Hashibe M, La Vecchia C, Zhang ZF. Alcohol consumption and cancers of the oral cavity and pharynx from 1988 to 2009: an update. Eur J Cancer Prev 2010 Nov;19(6):431-465.

(29) Shiu MN, Chen TH. Impact of betel quid, tobacco and alcohol on three-stage disease natural history of oral leukoplakia and cancer: implication for prevention of oral cancer. Eur J Cancer Prev 2004 Feb;13(1):39-45.

(30) Maserejian NN, Joshipura KJ, Rosner BA, Giovannucci E, Zavras AI. Prospective study of alcohol consumption and risk of oral premalignant lesions in men. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2006 Apr;15(4):774-781.

(31) Brouns ER, Baart JA, Bloemena E, Karagozoglu H, van der Waal I. The relevance of uniform reporting in oral leukoplakia: definition, certainty factor and staging based on experience with 275 patients. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2013 Jan 1;18(1):e19-26.

(32) Chi AC, Lambert PR,3rd, Pan Y, Li R, Vo DT, Edwards E, et al. Is alveolar ridge keratosis a true leukoplakia?: A clinicopathologic comparison of 2,153 lesions. J Am Dent Assoc 2007 May;138(5):641-651.

(33) Mignogna MD, Fortuna G, Leuci S, Adamo D, Siano M, Makary C, et al. Frictional keratoses on the facial attached gingiva are rare clinical findings and do not belong to the category of leukoplakia. J Oral Maxillofac Surg 2011 May;69(5):1367-1374.

(34) Natarajan E, Woo SB. Benign alveolar ridge keratosis (oral lichen simplex chronicus): A distinct clinicopathologic entity. J Am Acad Dermatol 2008 Jan;58(1):151-157.

(35) Hebbar PB, Pai A, D S. Mycological and histological associations of Candida in oral mucosal lesions. J Oral Sci 2013;55(2):157-160.

(36) Reibel J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. Crit Rev Oral Biol Med 2003;14(1):47-62.

(37) Krogh P, Hald B, Holmstrup P. Possible mycological etiology of oral mucosal cancer: catalytic potential of infecting Candida albicans and other yeasts in production of N-nitrosobenzylmethylamine. Carcinogenesis 1987 Oct;8(10):1543-1548.

(38) Krogh P, Holmstrup P, Thorn JJ, Vedtofte P, Pindborg JJ. Yeast species and biotypes associated with oral leukoplakia and lichen planus. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1987 Jan;63(1):48-54.

(39) Gainza-Cirauqui ML, Nieminen MT, Novak Frazer L, Aguirre-Urizar JM, Moragues MD, Rautemaa R. Production of carcinogenic acetaldehyde by Candida albicans from patients with potentially malignant oral mucosal disorders. J Oral Pathol Med 2013 Mar;42(3):243-249.

(40) Sciubba JJ. Oral leukoplakia. Crit Rev Oral Biol Med 1995;6(2):147-160.

(41) Sosorbaram K, Sugita Y, Suzumura Y, Sato E, Maeda H, Kameyama Y. Human papillomavirus infection in the normal oral cavity of young people in Mongolia. Oral Med Pathol 2006;11:105-112.

(42) Summersgill KF, Smith EM, Levy BT, Allen JM, Haugen TH, Turek LP. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001 Jan;91(1):62-69.

(43) Rintala M, Grenman S, Puranen M, Syrjanen S. Natural history of oral papillomavirus infections in spouses: a prospective Finnish HPV Family Study. J Clin Virol 2006 Jan;35(1):89-94.

(44) Kristoffersen AK, Enersen M, Kverndokk E, Sunde PT, Landin M, Solheim T, et al. Human papillomavirus subtypes in oral lesions compared to healthy oral mucosa. J Clin Virol 2012 Jan 17.

(45) Llamas-Martinez S, Esparza-Gomez G, Campo-Trapero J, Cancela-Rodriguez P, Bascones-Martinez A, Moreno-Lopez LA, et al. Genotypic determination by PCR-RFLP of human papillomavirus in normal oral mucosa, oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma samples in Madrid (Spain). Anticancer Res 2008 Nov-Dec;28(6A):3733-3741.

(46) Campisi G, Giovannelli L, Arico P, Lama A, Di Liberto C, Ammatuna P, et al. HPV DNA in clinically different variants of oral leukoplakia and lichen planus. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004 Dec;98(6):705-711.

(47) Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005 Feb;14(2):467-475.

(48) Syrjanen S, Lodi G, von Bultzingslowen I, Aliko A, Arduino P, Campisi G, et al. Human papillomaviruses in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: a systematic review. Oral Dis 2011 Apr;17 Suppl 1:58-72.

(49) Hennessey PT, Westra WH, Califano JA. Human papillomavirus and head and neck squamous cell carcinoma: recent evidence and clinical implications. J Dent Res 2009 Apr;88(4):300-306.

(50) Terai M, Hashimoto K, Yoda K, Sata T. High prevalence of human papillomaviruses in the normal oral cavity of adults. Oral Microbiol Immunol 1999 Aug;14(4):201-205.

(51) Miller CS, Johnstone BM. Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis, 1982-1997. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001 Jun;91(6):622-635.

(52) Varnai AD, Bollmann M, Bankfalvi A, Kovacs K, Heller H, Schmitt C, et al. The prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in oral epithelial hyperplasia: proposal of a concept. J Oral Pathol Med 2009 Feb;38(2):181-187.

(53) Campisi G, Panzarella V, Giuliani M, Lajolo C, Di Fede O, Falaschini S, et al. Human papillomavirus: its identity and controversial role in oral oncogenesis, premalignant and malignant lesions (review). Int J Oncol 2007 Apr;30(4):813-823.

(54) Acay R, Rezende N, Fontes A, Aburad A, Nunes F, Sousa S. Human papillomavirus as a risk factor in oral carcinogenesis: a study using in situ hybridization with signal amplification. Oral Microbiol Immunol 2008 Aug;23(4):271-274.

(55) Silverman S,Jr, Gorsky M. Proliferative verrucous leukoplakia: a follow-up study of 54 cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1997 Aug;84(2):154-157.

(56) Bagan JV, Jimenez Y, Murillo J, Gavalda C, Poveda R, Scully C, et al. Lack of association between proliferative verrucous leukoplakia and human papillomavirus infection. J Oral Maxillofac Surg 2007 Jan;65(1):46-49.

(57) Greenspan JS, Greenspan D, Lennette ET, Abrams DI, Conant MA, Petersen V, et al. Replication of Epstein-Barr virus within the epithelial cells of oral "hairy" leukoplakia, an AIDS-associated lesion. N Engl J Med 1985 Dec 19;313(25):1564-1571.

(58) Bagan JV, Jimenez Y, Murillo J, Poveda R, Diaz JM, Gavalda C, et al. Epstein-Barr virus in oral proliferative verrucous leukoplakia and squamous cell carcinoma: A preliminary study. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2008 Feb 1;13(2):E110-3.

(59) Kis A, Feher E, Gall T, Tar I, Boda R, Toth ED, et al. Epstein-Barr virus prevalence in oral squamous cell cancer and in potentially malignant oral disorders in an eastern Hungarian population. Eur J Oral Sci 2009 Oct;117(5):536-540.

(60) Savage SA. dyskeratosis congenita. In: Pagon RA, Bird TC, Dolan CD, Stephens K, editors. Genes reviews Seattle: Bookshelf; 2009.

(61) Bose SC, Singh M, Vyas P, Singh M. Plasma zinc antioxidant vitamins, glutathione levels and total antioxidant activity in oral leukoplakia. Dent Res J (Isfahan) 2012 Mar;9(2):158-161.

(62) Mahesh N, Rahamthullah SA, Naidu GM, Rajesh A, Babu PR, Reddy JM. Alterations of Plasma lipid profile patterns in oral leukoplakia. J Int Oral Health 2014 Feb;6(1):78-84.

(63) Kumar P, Augustine J, Urs AB, Arora S, Gupta S, Mohanty VR. Serum lipid profile in oral cancer and leukoplakia: correlation with tobacco abuse and histological grading. J Cancer Res Ther 2012 Jul-Sep;8(3):384-388.

(64) Amarasinghe HK, Usgodaarachchi U, Kumaraarachchi M, Johnson NW, Warnakulasuriya S. Diet and risk of oral potentially malignant disorders in rural Sri Lanka. J Oral Pathol Med 2013 Oct;42(9):656-662.

(65) Damm DD, Curran A, White DK, Drummond JF. Leukoplakia of the maxillary vestibule--an association with Viadent? Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1999 Jan;87(1):61-66.

(66) Lodi G, Porter S. Management of potentially malignant disorders: evidence and critique. J Oral Pathol Med 2008 Feb;37(2):63-69.

(67) van der Waal I, Axell T. Oral leukoplakia: a proposal for uniform reporting. Oral Oncol 2002 Sep;38(6):521-526.

(68) Baladé D, Llamas S, Cerero R, Esparza G. Las lesiones blancas de la mucosa oral en el ámbito del precáncer oral. RCOE 2009 Junio;14(2):179-197.

(69) Holmstrup P, Vedtofte P, Reibel J, Stoltze K. Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. Oral Oncol 2006 May;42(5):461-474.

(70) Amagasa T, Yamashiro M, Ishikawa H. Oral Leukoplakia Related to Malignant Transformation. Oral Science International 2006 11;3(2):45-55.

(71) Hamadah O, Goodson ML, Thomson PJ. Clinicopathological behaviour of multiple oral dysplastic lesions compared with that of single lesions. Br J Oral Maxillofac Surg 2009 Oct 1.

(72) Schepman KP, Bezemer PD, van der Meij EH, Smeele LE, van der Waal I. Tobacco usage in relation to the anatomical site of oral leukoplakia. Oral Dis 2001 Jan;7(1):25-27.

(73) Pentenero M, Giaretti W, Navone R, Rostan I, Gassino L, Broccoletti R, et al. Evidence for a possible anatomical subsite-mediated effect of tobacco in oral potentially malignant disorders and carcinoma. J Oral Pathol Med 2011 Mar;40(3):214-217.

(74) Freitas MD, Blanco-Carrion A, Gandara-Vila P, Antunez-Lopez J, Garcia-Garcia A, Gandara Rey JM. Clinicopathologic aspects of oral leukoplakia in smokers and nonsmokers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006 Aug;102(2):199-203.

(75) Kuribayashi Y, Tsushima F, Sato M, Morita K, Omura K. Recurrence patterns of oral leukoplakia after curative surgical resection: important factors that predict the risk of recurrence and malignancy. J Oral Pathol Med 2012 Oct;41(9):682-688.

(76) Castagnola P, Malacarne D, Scaruffi P, Maffei M, Donadini A, Di Nallo E, et al. Chromosomal aberrations and aneuploidy in oral potentially

malignant lesions: distinctive features for tongue. BMC Cancer 2011 Oct 13;11:445-2407-11-445.

(77) Hansen LS, Olson JA, Silverman S,Jr. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1985 Sep;60(3):285-298.

(78) van der Waal I, Reichart PA. Oral proliferative verrucous leukoplakia revisited. Oral Oncol 2008 Aug;44(8):719-721.

(79) Aguirre-Urizar JM. Proliferative multifocal leukoplakia better name that proliferative verrucous leukoplakia. World J Surg Oncol 2011 Oct 10;9:122.

(80) Ge L, Wu Y, Wu LY, Zhang L, Xie B, Zeng X, et al. Case report of rapidly progressive proliferative verrucous leukoplakia and a proposal for aetiology in mainland China. World J Surg Oncol 2011 Feb 27;9:26.

(81) Bagan J, Scully C, Jimenez Y, Martorell M. Proliferative verrucous leukoplakia: a concise update. Oral Dis 2010 May;16(4):328-332.

(82) Gouvea AF, Vargas PA, Coletta RD, Jorge J, Lopes MA. Clinicopathological features and immunohistochemical expression of p53, Ki-67, Mcm-2 and Mcm-5 in proliferative verrucous leukoplakia. J Oral Pathol Med 2010 Jul;39(6):447-452.

(83) Bagan JV, Jimenez Y, Sanchis JM, Poveda R, Milian MA, Murillo J, et al. Proliferative verrucous leukoplakia: high incidence of gingival squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med 2003 Aug;32(7):379-382.

(84) Gandolfo S, Castellani R, Pentenero M. Proliferative verrucous leukoplakia: a potentially malignant disorder involving periodontal sites. J Periodontol 2009 Feb;80(2):274-281.

(85) Cerero-Lapiedra R, Balade-Martinez D, Moreno-Lopez LA, Esparza-Gomez G, Bagan JV. Proliferative verrucous leukoplakia: a proposal for diagnostic criteria. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2010 Nov 1;15(6):e839-45.

(86) Schepman KP, van der Waal I. A proposal for a classification and staging system for oral leukoplakia: a preliminary study. Eur J Cancer B Oral Oncol 1995 Nov;31B(6):396-398.

(87) Jaber MA. Oral epithelial dysplasia in non-users of tobacco and alcohol: an analysis of clinicopathologic characteristics and treatment outcome. J Oral Sci 2010;52(1):13-21.

(88) Warnakulasuriya S, Reibel J, Bouquot J, Dabelsteen E. Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement. J Oral Pathol Med 2008 Mar;37(3):127-133.

(89) Feller L, Lemmer J. Oral Leukoplakia as It Relates to HPV Infection: A Review. Int J Dent 2012;2012:540561.

(90) Aguirre JM, Eguia A. Bases histopatológicas del precáncer oral. Displasia epitelial oral. In: Bascones-Martinez A, Seoane JM, Aguado A, Suarez JM, editors. Cáncer y precáncer oral. Bases clinico-quirúrgicas y moleculares. 1ª ed. Madrid: Avances medico-dentales, SL; 2003. p. 41.

(91) Scully C, Sudbo J, Speight PM. Progress in determining the malignant potential of oral lesions. J Oral Pathol Med 2003 May;32(5):251-256.

(92) Kujan O, Khattab A, Oliver RJ, Roberts SA, Thakker N, Sloan P. Why oral histopathology suffers inter-observer variability on grading oral epithelial dysplasia: an attempt to understand the sources of variation. Oral Oncol 2007 Mar;43(3):224-231.

(93) Abbey LM, Kaugars GE, Gunsolley JC, Burns JC, Page DG, Svirsky JA, et al. Intraexaminer and interexaminer reliability in the diagnosis of oral epithelial dysplasia. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology 1995 8;80(2):188-191.

(94) Bouquot JE, Speight PM, Farthing PM. Epithelial dysplasia of the oral mucosa—Diagnostic problems and prognostic features. Current Diagnostic Pathology 2006 2;12(1):11-21.

(95) 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 Nov;42(10):987-993.

(96) Tilakaratne WM, Sherriff M, Morgan PR, Odell EW. Grading oral epithelial dysplasia: analysis of individual features. J Oral Pathol Med 2011 Aug;40(7):533-540.

(97) Pindborg JJ, Reibel J, Holmstrup P. Subjectivity in evaluating oral epithelial dysplasia, carcinoma in situ and initial carcinoma. J Oral Pathol 1985 Oct;14(9):698-708.

(98) Warnakulasuriya S. Histological grading of oral epithelial dysplasia: revisited. J Pathol 2001 Jul;194(3):294-297.

(99) Gandolfo S, Carbone M, Carrozzo M, Scamuzzi S. Biopsy technics in oral oncology: excisional or incisional biopsy? A critical review of the literature and the authors' personal contribution. Minerva Stomatol 1993 Mar;42(3):69-75.

(100) Pentenero M, Carrozzo M, Pagano M, Galliano D, Broccoletti R, Scully C, et al. Oral mucosal dysplastic lesions and early squamous cell carcinomas: underdiagnosis from incisional biopsy. Oral Dis 2003 Mar;9(2):68-72.

(101) Lee JJ, Hung HC, Cheng SJ, Chiang CP, Liu BY, Yu CH, et al. Factors associated with underdiagnosis from incisional biopsy of oral leukoplakic lesions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007 Aug;104(2):217-225.

(102) van der Waal I, Schepman KP, van der Meij EH. A modified classification and staging system for oral leukoplakia. Oral Oncol 2000 May;36(3):264-266.

(103) Arduino PG, Surace A, Carbone M, Elia A, Massolini G, Gandolfo S, et al. Outcome of oral dysplasia: a retrospective hospital-based study of 207 patients with a long follow-up. J Oral Pathol Med 2009 Jul;38(6):540-544.

(104) Silverman S, Bhargava K, Smith LW, Malaowalla AM. Malignant transformation and natural history of oral leukoplakia in 57,518 industrial workers of Gujarat, India. Cancer 1976 Oct;38(4):1790-1795.

(105) Chandu A, Smith AC. The use of CO2 laser in the treatment of oral white patches: outcomes and factors affecting recurrence. Int J Oral Maxillofac Surg 2005 Jun;34(4):396-400.

(106) Liu W, Wang YF, Zhou HW, Shi P, Zhou ZT, Tang GY. Malignant transformation of oral leukoplakia: a retrospective cohort study of 218 Chinese patients. BMC Cancer 2010 Dec 16;10:685-2407-10-685.

(107) Liu W, Shi LJ, Wu L, Feng JQ, Yang X, Li J, et al. Oral cancer development in patients with leukoplakia--clinicopathological factors affecting outcome. PLoS One 2012;7(4):e34773.

(108) Banoczy J. Follow-up studies in oral leukoplakia. J Maxillofac Surg 1977 Feb;5(1):69-75.

(109) Scully C. Challenges in predicting which oral mucosal potentially malignant disease will progress to neoplasia. Oral Dis 2014 Jan;20(1):1-5.

(110) Ribeiro AS, Salles PR, da Silva TA, Mesquita RA. A review of the nonsurgical treatment of oral leukoplakia. Int J Dent 2010;2010:186018.

(111) Schepman KP, van der Meij EH, Smeele LE, van der Waal I. Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from The Netherlands. Oral Oncol 1998 Jul;34(4):270-275.

(112) Lind PO. Malignant transformation in oral leukoplakia. Scand J Dent Res 1987 Dec;95(6):449-455.

(113) Feller L, Lemmer J. Cell transformation and the evolution of a field of precancerization as it relates to oral leukoplakia. Int J Dent 2011;2011:321750.

(114) Saito T, Sugiura C, Hirai A, Notani K, Totsuka Y, Shindoh M, et al. Development of squamous cell carcinoma from pre-existent oral leukoplakia: with respect to treatment modality. Int J Oral Maxillofac Surg 2001 Feb;30(1):49-53.

(115) Gupta PC, Mehta FS, Daftary DK, Pindborg JJ, Bhonsle RB, Jalnawalla PN, et al. Incidence rates of oral cancer and natural history of oral precancerous lesions in a 10-year follow-up study of Indian villagers. Community Dent Oral Epidemiol 1980;8(6):283-333.

(116) Brennan M, Migliorati CA, Lockhart PB, Wray D, Al-Hashimi I, Axell T, et al. Management of oral epithelial dysplasia: a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007 Mar;103 Suppl:S19.e1-12.

(117) Islam MN, Kornberg L, Veenker E, Cohen DM, Bhattacharyya I. Anatomic site based ploidy analysis of oral premalignant lesions. Head Neck Pathol 2010 Mar;4(1):10-14.

(118) Smith J, Rattay T, McConkey C, Helliwell T, Mehanna H. Biomarkers in dysplasia of the oral cavity: a systematic review. Oral Oncol 2009 Aug;45(8):647-653.

(119) Ishii J, Fujita K, Komori T. Laser surgery as a treatment for oral leukoplakia. Oral Oncol 2003 Dec;39(8):759-769.

(120) Einhorn J, Wersall J. Incidence of oral carcinoma in patients with leukoplakia of the oral mucosa. Cancer 1967 Dec;20(12):2189-2193.

(121) Zhang L, Poh CF, Lam WL, Epstein JB, Cheng X, Zhang X, et al. Impact of localized treatment in reducing risk of progression of low-grade oral dysplasia: molecular evidence of incomplete resection. Oral Oncol 2001 Sep;37(6):505-512.

(122) Gupta PC, Murti PR, Bhonsle RB, Mehta FS, Pindborg JJ. Effect of cessation of tobacco use on the incidence of oral mucosal lesions in a 10-yr follow-up study of 12,212 users. Oral Dis 1995 Mar;1(1):54-58.

(123) Yang SW, Tsai CN, Lee YS, Chen TA. Treatment outcome of dysplastic oral leukoplakia with carbon dioxide laser--emphasis on the factors affecting recurrence. J Oral Maxillofac Surg 2011 Jun;69(6):e78-87.

(124) Thomson PJ, Wylie J. Interventional laser surgery: an effective surgical and diagnostic tool in oral precancer management. Int J Oral Maxillofac Surg 2002 Apr;31(2):145-153.

(125) Chiesa F, Tradati N, Sala L, Costa L, Podrecca S, Boracchi P, et al. Follow-up of oral leukoplakia after carbon dioxide laser surgery. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1990 Feb;116(2):177-180.

(126) Maeda K, Suzuki T, Ooyama Y, Nakakuki K, Yamashiro M, Okada N, et al. Colorimetric analysis of unstained lesions surrounding oral squamous cell carcinomas and oral potentially malignant disorders using iodine. Int J Oral Maxillofac Surg 2010 May;39(5):486-492.

(127) Pandey M, Thomas G, Somanathan T, Sankaranarayanan R, Abraham EK, Jacob BJ, et al. Evaluation of surgical excision of non-homogeneous oral leukoplakia in a screening intervention trial, Kerala, India. Oral Oncol 2001 Jan;37(1):103-109.

(128) van der Hem PS, Nauta JM, van der Wal JE, Roodenburg JL. The results of CO2 laser surgery in patients with oral leukoplakia: a 25 year follow up. Oral Oncol 2005 Jan;41(1):31-37.

(129) Vivek V, Jayasree RS, Balan A, Sreelatha KT, Gupta AK. Three-year follow-up of oral leukoplakia after neodymium:yttrium aluminum garnet (Nd:YAG) laser surgery. Lasers Med Sci 2008 Oct;23(4):375-379.

(130) Lopez-Jornet P, Camacho-Alonso F. Comparison of pain and swelling after removal of oral leukoplakia with CO2 laser and cold knife: A randomized clinical trial. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2012 Dec 10.

(131) Chu FW, Silverman S,Jr, Dedo HH. CO2 laser treatment of oral leukoplakia. Laryngoscope 1988 Feb;98(2):125-130.

(132) Kumar A, Cascarini L, McCaul JA, Kerawala CJ, Coombes D, Godden D, et al. How should we manage oral leukoplakia? Br J Oral Maxillofac Surg 2012 Nov 14.

(133) Wong SJ, Campbell B, Massey B, Lynch DP, Cohen EE, Blair E, et al. A phase I trial of aminolevulinic acid-photodynamic therapy for treatment of oral leukoplakia. Oral Oncol 2013 Sep;49(9):970-976.

(134) Schaaij-Visser TB, Bremmer JF, Braakhuis BJ, Heck AJ, Slijper M, van der Waal I, et al. Evaluation of cornulin, keratin 4, keratin 13 expression and grade of dysplasia for predicting malignant progression of oral leukoplakia. Oral Oncol 2010 Feb;46(2):123-127.

(135) Lee JJ, Hong WK, Hittelman WN, Mao L, Lotan R, Shin DM, et al. Predicting cancer development in oral leukoplakia: ten years of translational research. Clin Cancer Res 2000 May;6(5):1702-1710.

(136) Dost F, Le Cao K, Ford PJ, Ades C, Farah CS. Malignant transformation of oral epithelial dysplasia: a real-world evaluation of histopathologic grading. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2014 Mar;117(3):343-352.

(137) Feller L, Wood NH, Khammissa RA, Lemmer J. Human papillomavirus-mediated carcinogenesis and HPV-associated oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Part 2: Human papillomavirus associated oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Head Face Med 2010 Jul 15;6:15.

(138) Gonzalez JV, Gutierrez RA, Keszler A, Colacino Mdel C, Alonio LV, Teyssie AR, et al. Human papillomavirus in oral lesions. Medicina (B Aires) 2007;67(4):363-368.

(139) Chang JY, Lin MC, Chiang CP. High-risk human papillomaviruses may have an important role in non-oral habits-associated oral squamous cell carcinomas in Taiwan. Am J Clin Pathol 2003 Dec;120(6):909-916.

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

(141) Hsue SS, Wang WC, Chen CH, Lin CC, Chen YK, Lin LM. Malignant transformation in 1458 patients with potentially malignant oral mucosal disorders: a follow-up study based in a Taiwanese hospital. J Oral Pathol Med 2007 Jan;36(1):25-29.

(142) Warnakulasuriya S, Kovacevic T, Madden P, Coupland VH, Sperandio M, Odell E, et al. Factors predicting malignant transformation in oral potentially malignant disorders among patients accrued over a 10-year period in South East England. J Oral Pathol Med 2011 Jul 18.

(143) Lian I, Tseng Y, Su C, Tsai K. Progression of precancerous lesions to oral cancer: Results based on the Taiwan National Health Insurance Database. Oral Oncol 2013 5;49(5):427-430.

(144) OMS. 2010; Available at: www.apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en#/C00-C14.

(145) R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. Available at: http://www.R-project.org/, 2013.

(146) Napier SS, Cowan CG, Gregg TA, Stevenson M, Lamey PJ, Toner PG. Potentially malignant oral lesions in Northern Ireland: size (extent) matters. Oral Dis 2003 May;9(3):129-137.

(147) Brouns E, Baart J, Karagozoglu K, Aartman I, Bloemena E, van der Waal I. Malignant transformation of oral leukoplakia in a well-defined cohort of 144 patients. Oral Dis 2013 Mar 6.

(148) Lumerman H, Freedman P, Kerpel S. Oral epithelial dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1995 Mar;79(3):321-329.

(149) Mishra M, Mohanty J, Sengupta S, Tripathy S. Epidemiological and clinicopathological study of oral leukoplakia. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2005 May-Jun;71(3):161-165.

(150) Sagarkar AR, Sagarkar RM, Arabbi KC, Shivamallappa SM. A substantive review on tobacco use among school-going adolescents in India. J Int Soc Prev Community Dent 2013 Jan;3(1):7-11.

(151) Ariza C, Garcia-Continente X, Villalbi JR, Sanchez-Martinez F, Perez A, Nebot M. Tobacco use by adolescents in Barcelona (Spain) and trends in the last 20 years. Gac Sanit 2014 Jan-Feb;28(1):25-33.

(152) Liu W, Bao ZX, Shi LJ, Tang GY, Zhou ZT. Malignant transformation of oral epithelial dysplasia: clinicopathological risk factors and outcome analysis in a retrospective cohort of 138 cases. Histopathology 2011 Oct;59(4):733-740.

(153) Chiesa F, Boracchi P, Tradati N, Rossi N, Costa L, Giardini R, et al. Risk of preneoplastic and neoplastic events in operated oral leukoplakias. Eur J Cancer B Oral Oncol 1993 Jan;29B(1):23-28.

(154) Gangadharan P, Paymaster JC. Leukoplakia--an epidemiologic study of 1504 cases observed at the Tata Memorial Hospital, Bombay, India. Br J Cancer 1971 Dec;25(4):657-668.

(155) Lee JJ, Hung HC, Cheng SJ, Chen YJ, Chiang CP, Liu BY, et al. Carcinoma and dysplasia in oral leukoplakias in Taiwan: prevalence and risk factors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006 Apr;101(4):472-480.

(156) Roosaar A, Yin L, Johansson AL, Sandborgh-Englund G, Nyren O, Axell T. A long-term follow-up study on the natural course of oral leukoplakia

in a Swedish population-based sample. J Oral Pathol Med 2007 Feb;36(2):78-82.

(157) Feller L, Altini M, Slabbert H. Pre-malignant lesions of the oral mucosa in a South African sample--a clinicopathological study. J Dent Assoc S Afr 1991 May;46(5):261-265.

(158) Dietrich T, Reichart PA, Scheifele C. Clinical risk factors of oral leukoplakia in a representative sample of the US population. Oral Oncol 2004 Feb;40(2):158-163.

(159) Banoczy J, Gintner Z, Dombi C. Tobacco use and oral leukoplakia. J Dent Educ 2001 Apr;65(4):322-327.

(160) Shiu MN, Chen TH, Chang SH, Hahn LJ. Risk factors for leukoplakia and malignant transformation to oral carcinoma: a leukoplakia cohort in Taiwan. Br J Cancer 2000 2000 Jun;82(11):1871-1874.

(161) Sugar L, Banoczy J. Follow-up studies in oral leukoplakia. Bull World Health Organ 1969;41(2):289-293.

(162) Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e igualdad. 2012 NATIONAL REPORT (2011 data) TO THE EMCDDA by the Reitox National Focal Poin.Available at: www.pnsd.msssi.gob.es/Categoria2/publica/pdf/2012NATIONAL_REPORT_REITOX.pdf, 2014.

(163) Scheifele C, Reichart PA, Dietrich T. Low prevalence of oral leukoplakia in a representative sample of the US population. Oral Oncol 2003 Sep;39(6):619-625.

(164) Hashibe M, Sankaranarayanan R, Thomas G, Kuruvilla B, Mathew B, Somanathan T, et al. Alcohol drinking, body mass index and the risk of oral leukoplakia in an Indian population. Int J Cancer 2000 Oct 1;88(1):129-134.

(165) Pindborg JJ, Jolst O, Renstrup G, Roed-Petersen B. Studies in oral leukoplakia: a preliminary report on the period pervalence of malignant transformation in leukoplakia based on a follow-up study of 248 patients. J Am Dent Assoc 1968 Apr;76(4):767-771.

(166) Vazquez-Alvarez R, Fernandez-Gonzalez F, Gandara-Vila P, Reboiras-Lopez D, Garcia-Garcia A, Gandara-Rey JM. Correlation between clinical and pathologic diagnosis in oral leukoplakia in 54 patients. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2010 Nov 1;15(6):e832-8.

(167) Holmstrup P, Vedtofte P, Reibel J, Stoltze K. Oral premalignant lesions: is a biopsy reliable? J Oral Pathol Med 2007 May;36(5):262-266.

(168) Lucio M, Andrea G, Bartolomeo GD, Fabio C, Dora S. Between-lesion discrepancies in terms of dysplasia, cell turnover and diagnosis in patients with multiple potentially malignant oral lesions. Open Dent J 2013 Nov 29;7:169-174.

(169) Thomson PJ, Hamadah O. Cancerisation within the oral cavity: the use of 'field mapping biopsies' in clinical management. Oral Oncol 2007 Jan;43(1):20-26.

(170) Jeong WJ, Paik JH, Cho SW, Sung MW, Kim KH, Ahn SH. Excisional biopsy for management of lateral tongue leukoplakia. J Oral Pathol Med 2012 May;41(5):384-388.

(171) Waldron CA, Shafer WG. Leukoplakia revisited. A clinicopathologic study 3256 oral leukoplakias. Cancer 1975 Oct;36(4):1386-1392.

(172) Montgomery E. Is there a way for pathologists to decrease interobserver variability in the diagnosis of dysplasia? Arch Pathol Lab Med 2005 Feb;129(2):174-176.

(173) Fleskens S, Slootweg P. Grading systems in head and neck dysplasia: their prognostic value, weaknesses and utility. Head Neck Oncol 2009 May 11;1:11-3284-1-11.

(174) Fleskens SA, Bergshoeff VE, Voogd AC, van Velthuysen ML, Bot FJ, Speel EJ, et al. Interobserver variability of laryngeal mucosal premalignant lesions: a histopathological evaluation. Mod Pathol 2011 Jul;24(7):892-898.

(175) Turner JK, Williams GT, Morgan M, Wright M, Dolwani S. Interobserver agreement in the reporting of colorectal polyp pathology among bowel cancer screening pathologists in Wales. Histopathology 2013 May;62(6):916-924.

(176) Nankivell P, Williams H, Matthews P, Suortamo S, Snead D, McConkey C, et al. The binary oral dysplasia grading system: validity testing and suggested improvement. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2013 Jan;115(1):87-94.

(177) Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 1977 Mar;33(1):159-174.

(178) Jaber MA, Porter SR, Gilthorpe MS, Bedi R, Scully C. Risk factors for oral epithelial dysplasia--the role of smoking and alcohol. Oral Oncol 1999 Mar;35(2):151-156.

(179) Saito T, Sugiura C, Hirai A, Notani K, Totsuka Y, Shindoh M, et al. High malignant transformation rate of widespread multiple oral leukoplakias. Oral Dis 1999 Jan;5(1):15-19.

(180) Zhang L, Cheung KJ,Jr, Lam WL, Cheng X, Poh C, Priddy R, et al. Increased genetic damage in oral leukoplakia from high risk sites: potential impact on staging and clinical management. Cancer 2001 Jun 1;91(11):2148-2155.

(181) Squier CA. The permeability of oral mucosa. Crit Rev Oral Biol Med 1991;2(1):13-32.

(182) Mashberg A, Meyers H. Anatomical site and size of 222 early asymptomatic oral squamous cell carcinomas: a continuing prospective study of oral cancer. II. Cancer 1976 May;37(5):2149-2157.

(183) Ho PS, Chen PL, Warnakulasuriya S, Shieh TY, Chen YK, Huang IY. Malignant transformation of oral potentially malignant disorders in

males: a retrospective cohort study. BMC Cancer 2009 Jul 30;9:260-2407-9-260.

(184) Scheifele C, Reichart PA. Is there a natural limit of the transformation rate of oral leukoplakia? Oral Oncol 2003 Jul;39(5):470-475.

(185) Ho MW, Risk JM, Woolgar JA, Field EA, Field JK, Steele JC, et al. The clinical determinants of malignant transformation in oral epithelial dysplasia. Oral Oncol 2012 Oct;48(10):969-976.

(186) Pindborg JJ, Daftary DK, Mehta FS. A follow-up study of sixty-one oral dysplastic precancerous lesions in Indian villagers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1977 Mar;43(3):383-390.

(187) Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. Cancer 1953 Sep;6(5):963-968.

(188) Thomson PJ. Field change and oral cancer: new evidence for widespread carcinogenesis? Int J Oral Maxillofac Surg 2002 Jun;31(3):262-266.

(189) Xia RH, Song XM, Wang XJ, Li J, Mao L. The combination of SMAD4 expression and histological grade of dysplasia is a better predictor for the malignant transformation of oral leukoplakia. PLoS One 2013 Jun 24;8(6):e66794.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

VIII. ANEXOS

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Anexos I.

SEMO

PROTOCOLOS DE MEDICINA BUCAL
Sociedad Española de Medicina Oral
LEUCOPLASIA ORAL

N.º _____

Paciente: _____ Sexo: M ☐ H ☐ Edad: _____ Fecha nac. ___/___/___

Centro:_____ Fecha H.º Clínica: ___/___/___

1. **Datos clínicos: Anamnesis**

1.1 Sintomatología: No ☐ Si ☐

1.2 Dolor No ☐ Si ☐ Otros ☐ _____

1.3 ¿Desde cuando?: < 3 m ☐ 3-6 m ☐ 6-12 m ☐ > 12 m ☐ No recuerda ☐

1.4 ¿Lo relaciona con algo?: No ☐ Si ☐ _____

1.5 ¿Fuma?: No ☐ Si ☐ Cantidad:_____/día Tipo: _____ ¿Desde cuando?:_____

1.6 ¿Bebe?: No ☐ Si ☐ Cantidad:_____/día Tipo: _____ ¿Desde cuando? _____

1.7 ¿Utiliza frecuentemente colutorios? No ☐ Si ☐ Especificar:_____

1.8 ¿Exposición crónica a la luz? No ☐ Si ☐:_____

1.9 ¿Presenta alguna fricción crónica? No ☐ Si ☐:_____

1.10 ¿Restauraciones metálicas? No ☐ Si ☐ ¿Galvanismo? _____

1.11 ¿Asociación a hiperqueratosis palmo-plantar? No ☐ Si ☐ Genodermatosis _____

1.12 ¿Presenta algún déficit nutricional? No ☐ Si ☐ _____

1.13 Antecedente de neoplasia No ☐ Si ☐ _____

1.14 Otras enfermedades: _____

_____

2. **Exploración**

2.1 Fotografías Clínicas: No ☐ Si ☐

2.2 Tamaño: (cm) _____

2.3 Unifocal ☐ Multifocal ☐

2.4 Induración a la palpación No ☐ Si ☐ _____

2.5 Presencia de *Candida* No ☐ Si ☐ _____

2.6 Lesiones homogéneas: No ☐ Si ☐

2.6.1 Localización: _____

2.6.2 Color: _____

2.6.3 Textura: _____

1

2.7 Lesiones NO homogéneas moteadas nodulares: No ☐ Si ☐

2.7.1 Localización: _____

2.7.2 Color: _____

2.7.3 Textura: _____

2.8 Lesiones No homogéneas eritroleucoplásicas: No ☐ Si ☐

2.8.1 Localización: _____

2.8.2 Color: _____

2.8.3 Textura: _____

2.9 Lesiones NO homogéneas verrugosas: No ☐ Si ☐

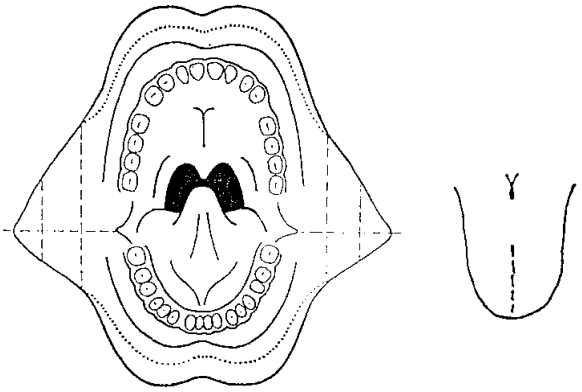
2.9.1 Localización: _____

2.9.2 Color: _____

2.9.3 Textura: _____

2.10 Otras lesiones:

Tipo/Localización/ Color/ Textura _____



3. **Biopsia. Histopatología** Fecha Biopsia: ____/____/____

3.1 Localización de la biopsia: _____

3.2 Número de biopsias: _____

3.3 Lugar: Área Engrosada ☐ Ulcerada ☐ Indurada ☐

3.4 Azul de toluidina Si ☐ No ☐ Resultado _____

3.5 Citología No ☐ Si ☐ Resultado _____

3.6 B. Incisional ☐ - Excisional ☐

3.7 Hiperqueratosis: No ☐ Si ☐ orto ☐ para ☐

3.8 Hiperplasia epitelial: No ☐ Si ☐

3.9 Acantosis: No ☐ Si ☐

3.10 Infiltración inflamatoria: No ☐ Si ☐ Tipo _____

3.11 Displasia epitelial: No ☐ Si ☐ Grado L ☐ M ☐ S ☐

---

4. **Otras exploraciones**

4.1 Cultivo de *Candida*: (+) (-) N.º UFC: _____ Fecha Cultivo: ____/____/____

4.2 Analitica sanguínea _____ Fecha Analítica: ____/____/____

4.2.1 Hematíes _____

4.2.2 Hemoglobina _____

4.2.3 Ferritina _____

4.2.4 Folico _____

4.2.5 Vit A _____

4.2.6 Vit B _____

4.2.7 Test de función hepática _____

4.2.8 Cobre _____

4.2.9 Zinc _____

4.3 Otros Exámenes: Tipo/Resultado/Fecha:

---

5. **Riesgo de Malignización**

—Varón ☐

—> 50 años ☐

—Hábitos tóxicos: Tabaco - Alcohol ☐

—Localización: Suelo de boca ☐ Borde lateral de lengua ☐ Área retromolar ☐
Surco vestibular inferior ☐ Labio inferior ☐

—Variedad clínica no homogénea ☐

—Largo tiempo de evolución ☐

—Multifocalidad ☐

—Displasia ☐

—Antecedente de neoplasia tracto aerodigestivo superior ☐

—Enfermedad favorecedora precancerosa ☐

---

6. **Tratamiento**

6.1 **Corrección de factores de riesgo y agravantes locales**

—Eliminación tabaco/alcohol ☐

—Control higiene bucal ☐

—Eliminación aristas-dientes ☐

—Sustitución/reparación prótesis removibles ☐

—Tratamiento antifúngico ☐

— Dieta adecuada ☐

—Otros ☐

6.2 **Leucoplasia SIN displasia**:

—NO Tratar ☐ No Factores de riesgo ☐

—Control cada 3 ☐ a 6 ☐ meses

—Biopsia a los 3 ☐ años si no hay cambios clínicos

—Nueva biopsia si hay cambios clínicos Si ☐ No ☐

—SI Tratar ☐ Si Factores de riesgo ☐

—Cirugía ☐

—Láser CO2 ☐

6.3 **Leucoplasia CON displasia**

—TRATAR ☐

—Lesión gran tamaño: Láser CO2 ☐

—Lesión pequeña: Cirugía ☐

—Lesiones multifocales y zonas compleja cirugía:

—Láser CO2 ☐

—Bleomicina tópica ☐

—Pauta _____

—Tiempo tratamiento _____

—Respuesta: Completa ☐ Parcial ☐ Nula ☐

—Retinoides sistémicos ☐

—Pauta _____

—Tiempo tratamiento _____

—Respuesta: Completa ☐ Parcial ☐ Nula ☐

—Efectos adversos al Tto. Farmacológico No ☐ Si ☐ Tipo _____

—Revisión cada 6 meses ☐

Anexo II

Título del estudio: Papel de los factores relacionados con la hipoxia/acidez tumoral y la inmunidad del huésped en la carcinogénesis y el pronóstico de las lesiones de la cavidad oral.

Código del estudio: 2013/541

Se le ha pedido que participe en un estudio de investigación. Antes de decidir si va a participar es importante que entienda por qué se hace esta investigación, cómo se utilizará su información, qué implicaciones tiene el estudio y los posibles beneficios, riesgos y molestias que conlleva. Tómese el tiempo necesario para leer con detenimiento la siguiente información y hable de ello con su dentista.

Información general y finalidad del estudio

Se le ha pedido que participe en este estudio porque ha sido usted diagnosticado de un carcinoma oral de células escamosas (COCE) o una lesión potencialmente maligna o por formar parte del grupo control.

En el estudio participarán 340 sujetos, 134 pacientes como usted con COCE, 100 pacientes con lesiones precancerosas, 100 pacientes con lesiones liquenoides y 72 sujetos sin lesiones mucosa oral. Todos, pacientes que acudan al Servicio de Cirugía Maxilofacial del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, no tratados previamente. Se le tomarán dos muestras citológicas, una para su estudio citopatológico y otra para estudiar la expresión genética de genes reguladores del micromedioambiente tumoral y celular y de las células inmunitarias. El diagnóstico de certeza se realizará mediante biopsia de la lesión, que es el procedimiento habitual en estos pacientes. Además se extraerá una muestra de sangre, para determinar los niveles de determinadas células inflamatorias.

Los procedimientos que se utilizan de manera rutinaria en la práctica asistencial en los pacientes con lesiones, son la biopsia, la extracción de sangre y en ocasiones la citología exfoliativa. En cuanto a los pacientes sanos (controles), se les practicará una simple extracción sanguínea y una citología exfoliativa, que formarían parte de las técnicas específicas de este estudio.

En la cavidad oral existen múltiples lesiones con aspecto ulcerado, y a pesar de que muchas de ellas son de carácter benigno (liquen plano erosivo, aftas, etc), es necesario establecer el diagnóstico diferencial con el carcinoma oral de células escamosas (COCE). El COCE es una entidad relativamente frecuente, con una elevada morbi mortalidad cuando se diagnostica en estadios avanzados, y con un mejor pronóstico si se diagnostica precozmente. Las lesiones que aparecen en el COCE pueden ser visualizadas fácilmente en la inspección de la cavidad oral que realizan tanto los médicos de atención primaria como dentistas. Por su aspecto clínico, los COCE son difícilmente distinguibles de las lesiones benignas.

Para el diagnóstico se requiere biopsia con confirmación anatomopatológica, lo que implica una prueba cruenta y hace necesaria la participación de otro personal especializado. En caso de que la determinación genética de ATP6V1C1 y otros marcadores de hipoxia en la citología fuese una prueba eficaz en el diagnóstico del COCE, tal como es la pretensión de este proyecto, los profesionales de la atención primaria y los dentistas dispondrían de una prueba de fácil ejecución y no cruenta, con la que poder cribar a los pacientes con sospecha diagnóstica de COCE, enviando a estos pacientes con resultado positivo a las unidades hospitalarias de referencia.

La participación es voluntaria
La decisión de participar o no en el estudio es sólo suya. Si decide no participar en el estudio, debe saber que no se verá perjudicado de ningún modo, y que ello no afectará en modo alguno al tratamiento y la atención médica que tiene derecho a recibir. Si acepta participar tendrá que firmar este formulario de consentimiento informado. Si decide participar podrá retirarse del estudio en cualquier momento, sin que la atención que reciba en el futuro se vea afectada y sin necesidad de dar ningún tipo de explicación.

De la misma manera, los médicos responsables del estudio (Dr. Mario Pérez-Sayáns García y Abel García García) podrán decidir en algún momento que seguir participando en el estudio no redunda en su interés y podrán retirarle del mismo. Así mismo, será informado si sale a la luz cualquier nueva información sobre el/los producto(s) del estudio que pueda influir en su decisión de continuar en él. Si no desea participar en el estudio, su médico del proyecto proseguirá con el tratamiento previsto en este centro clínico.

¿Qué pasará si decido participar?
Que le tomaremos unas muestras de las células superficiales de la mucosa mediante citología (mediante un cepillo) para realizar un análisis de las mismas al microscopio y mediante técnicas de análisis genético, para evaluar los niveles de expresión de esos marcadores. Además le realizaremos una extracción de sangre para determinar las células inflamatorias.

Posibles efectos secundarios, riesgos y molestias
Los efectos secundarios que puede presentar son los derivados de la toma de muestra citológica mediante cepillos o curetas. Puede presentar molestias durante el raspado, inflamación, edema, enrojecimiento o ligero sangrado tras la toma de las muestras. En cuanto a la biopsia, que es obligada para el diagnóstico, los riesgos son mínimos siempre que la técnica se realice correctamente y las molestias incluyen hemorragias que ceden por sí solas, sensación de malestar en la zona y dolor; estos riesgos sólo afectan al grupo de pacientes que presentan lesiones y no a los controles. En cuanto a la extracción sanguínea (que sí se realiza a los controles), pueden surgir como riesgos pequeños hematomas en la zona de extracción y mareos o desvanecimientos.

¿Obtendré algún beneficio por participar?
La participación en este estudio no representa ninguna ventaja ni en el diagnóstico ni en el tratamiento de su enfermedad.

Es posible que durante este estudio o después de finalizarlo no experimente ningún efecto beneficioso directo en su salud, pero su participación en el estudio aportará información sobre el diagnóstico citológico del cáncer que podría beneficiar a otras personas.

Tratamiento de los datos personales y los resultados
Durante el estudio, recogeremos algunos datos personales suyos de manera codificada, como el año de nacimiento, el sexo y datos sobre su estado de salud o sus enfermedades (pasadas y actuales, etc.), así como los resultados de las evaluaciones del estudio. El Dr. Pérez-Sayáns será el responsable de la custodia de los mismos.

Sólo el médico del estudio y su personal podrán acceder a sus datos del estudio. En la Unidad de Medicina Oral, sus datos se almacenarán y analizarán manualmente de manera codificada y con medios informáticos. Sus respuestas y resultados se tratarán de modo que no puedan acceder a ellos personas no autorizadas.

La recogida y tratamiento de sus datos del estudio servirá para investigar y desarrollar el o los objetivos descritos en este formulario de consentimiento informado. Los resultados también se podrán publicar en revistas científicas, pero sin revelar su identidad.

La Unidad de Medicina Oral podrá compartir sus datos del estudio con otras unidades de su especialidad, quiénes emplearán sus datos del estudio sólo para los fines descritos arriba. No obstante, todos los datos transferidos serán codificados.

Tiene derecho a solicitar información sobre los datos personales que el médico del estudio podrá conservar sobre usted. También tiene el derecho a solicitar la rectificación de cualquier error en sus datos personales. Si desea realizar una petición, póngase primero en contacto con el médico del estudio. Las señas de contacto del médico del estudio aparecen al final de este formulario.

Si retira su consentimiento, el médico del estudio dejará de recoger sus datos del estudio. No obstante, la Unidad podrá seguir utilizando la información obtenida sobre usted antes de la retirada de su consentimiento. Si usted lo autoriza los datos podrán conservarse de manera anonimizada, rompiendo el vínculo para que ni los propios investigadores puedan identificarlo a usted.

En cuanto a las muestras biológicas obtenidas durante el estudio de la misma manera, si usted lo autoriza, los datos podrán conservarse de manera anonimizada, rompiendo el vínculo para que ni los propios investigadores puedan identificarlas

Contactos del estudio
Si sufre una lesión relacionada con el estudio o tiene alguna pregunta sobre el mismo, o el procedimiento/tratamiento, póngase en contacto con:

Médico responsable del estudio: Dr. Mario Pérez/Abel García, nº teléfono 981563100 Ext. 12357

CONSENTIMIENTO PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Papel de los factores relacionados con la hipoxia/acidez tumoral y la inmunidad del huésped en la carcinogénesis y el pronóstico de las lesiones de la cavidad oral (Código: 2013/541)

Yo,_____

He leído la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se me entregó, he podido hablar con _____ hacerle todas las preguntas necesarias para comprender las condiciones de participación y considero que he recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria, y que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Accedo a que se utilicen mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

☐ No accedo a que mis datos y muestras se conserven una vez terminado el estudio.

☐ Accedo a que mis datos y muestras se conserven una vez terminado el estudio, siempre y cuando sea imposible su identificación, por ningún medio, incluso para los investigadores.

La participante, El/la investigador/a,

Fdo.: **Fdo.:**

Fecha: **Fecha:**

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN ANTE TESTIGOS.

Papel de la hipoxia/acidez tumoral y la inmunidad del huésped en la carcinogénesis y el pronóstico de las lesiones de la cavidad oral (Código: 2013/541)

Yo, _____, como testigo, afirmo que en mi presencia se ha informado a D/Dª_____

- Que se le ha leído la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado, ha podido hablar con_____ y hacerle todas las preguntas necesarias para comprender las condiciones de su participación y considero que ha recibido suficiente información sobre el estudio.
- Comprende que su participación es voluntaria, y que puede retirarse del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Accede a que se utilicen sus datos en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.
- Presta libremente su conformidad para participar en el estudio.

☐ No accede a que sus datos y muestras se conserven una vez terminado el estudio.

☐ Accede a que sus datos y muestras se conserven una vez terminado el estudio, siempre y cuando sea imposible su identificación, por ningún medio, incluso para los investigadores.

El/testigo	El/la investigador/a,
Fdo.:	**Fdo.:**
Fecha:	**Fecha:**

El participante del estudio ha indicado que no puede o no sabe leer. Un miembro del personal del estudio le ha leido el documento de consentimiento, lo ha analizado con el participante y se le ha concedido la oportunidad de hacer preguntas o consultarlo con otras personas". El testigo ha de ser una persona imparcial, ajena al estudio.

ANEXO III

Localización	Fecha biopsia /grado de displasia						
CARA DORSAL DE LENGUA (0)							
CARA VENTRAL DE LENGUA (1)							
BORDE LATERAL IZQUIERDO (2)							
BORDE LATERAL DERECHO (3)							
SUELO DE BOCA (4)							
PALADAR DURO (5)							
PALADAR BLANDO (6)							
MUCOSA YUGAL DERECHA (7)							
MUCOSA YUGAL IZQUIERDA (8)							
ZONA RETROCOMISURAL derecha (9)							
ZONA RETROCOMISURAL izquierda (9)							
FONDO DE VESTIBULO (10)							
LABIO INFERIOR (11)							
REBORDE ALVEOLAR (12)							
ENCIA (13)							

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

ANEXO IV

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2010 Nov 1;15 (6):e832-8. Clinical and pathologic correlation in oral leukoplakia

Journal section: Oral Medicine and Pathology *doi:10.4317/medoral.15.e832*
Publication Types: Research

Correlation between clinical and pathologic diagnosis in oral leukoplakia in 54 patients

Rocío Vázquez-Álvarez [1], Francisca Fernández-González [1], Pilar Gándara-Vila [2], Dolores Reboiras-López [2], Abel García-García [3], José-Manuel Gándara-Rey [4]

[1] Dental surgeon. Student at the Master Degree Course in Oral Medicine, Oral Surgery, and Implantology. Faculty of Medicine and Odontology at the Universidad de Santiago de Compostela
[2] Dental surgeon. Lecturer at the Master Degree Course in Oral Medicine, Oral Surgery, and Implantology. Faculty of Medicine and Odontology at the Universidad de Santiago de Compostela
[3] Maxillofacial surgeon. Tenured lecturer in oral surgery. Director of the Master Degree Course in Oral Medicine, Oral Surgery, and Implantology. Faculty of Medicine and Odontology at the Universidad de Santiago de Compostela. Head of Maxillofacial Surgery Department at Hospital Provincial de Santiago de Compostela
[4] Stomatologist. Professor in oral medicine. Director of the Master Degree Course in Oral Medicine, Oral Surgery, and Implantology. Faculty of Medicine and Odontology at the Universidad de Santiago de Compostela

Correspondence:
Facultad de Odontología
c/ Entrerríos s/n
15705 Santiago de Compostela,
A Coruña, Spain
josemanuel.gandara@usc.es

Received: 30/06/2009
Accepted: 25/03/2010

Vázquez-Álvarez R, Fernández-González F, Gándara-Vila P, Reboiras-López D, García-García A, Gándara-Rey JM. Correlation between clinical and pathologic diagnosis in oral leukoplakia in 54 patients. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2010 Nov 1;15 (6):e832-8.
http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v15i6/medoralv15i6p832.pdf

Article Number: 17001 http://www.medicinaoral.com/
© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - pISSN 1698-4447 - eISSN: 1698-6946
eMail: medicina@medicinaoral.com
Indexed in:
-SCI EXPANDED
-JOURNAL CITATION REPORTS
-Index Medicus / MEDLINE / PubMed
-EMBASE, Excerpta Medica
-SCOPUS
-Indice Médico Español

Abstract

The main aim of this study was to establish a correlation between the clinical and pathologic diagnosis of oral leukoplakia with a particular focus on epithelial dysplasia. We reviewed the medical records of 54 patients with a clinical and histologic diagnosis of oral leukoplakia who were seen at our center between 2002 and 2008. We found that the disease was more common in men (59.3%) than in women and we also detected a significantly greater prevalence of alcohol and tobacco consumption in men. The mean age of the patients was 62.57 years. Three patients had been histologically diagnosed with invasive cancer and 4 with carcinoma in situ. The most common lesion site for leukoplakias with severe dysplasia and invasive carcinoma was the lateral aspect of the tongue, the floor of the mouth, and the gums. It is therefore essential to include these sites in the clinical examination to aid early diagnosis. A higher degree of dysplasia should be suspected in non-homogeneous leukoplakias. While dysplasia is associated with a greater risk of malignant transformation, it is also important to monitor leukoplakias without dysplastic features as they can occasionally be the site of carcinoma.

Key words: *Oral leukoplakia, epithelial dysplasia, oral cancer.*

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2010 Nov 1;15 (6):e832-8.

Introduction

Based on work by the Pindborg school, the World Health Organization (WHO) defined leukoplakia in 1978 as a white patch or plaque that cannot be rubbed off or characterized as any other disease. The WHO also stated that it was not a histopathologic entity as it was characterized by a wide variety of microscopic alterations. This essentially clinical definition of leukoplakia still holds today. At the first international conference on leukoplakia held in Malmö, Sweden in June 1983, it was decided to refine the definition by adding that the condition was not associated with any chemical or physical causative agents except tobacco.

In 1994, the WHO defined oral leukoplakia as a predominantly white lesion of the oral mucosa that cannot be characterized as any other definable lesion. Two years later, Axell et al (1) extended this definition by adding that some oral leukoplakias can transform into cancer. In a more recent publication, leukoplakia was defined as "white plaques of questionable risk having excluded (other) known diseases or disorders that carry no increased risk for cancer" (2).

Nowadays, certain authors recommend that an initial clinical diagnosis of leukoplakia should be considered provisional and confirmed histologically if the lesion persists after 2-4 weeks and when all other possible etiologic risk factors have been ruled out (3).

Leukoplakia shows characteristic histologic findings such as epithelial hyperplasia, hyperkeratosis, and/or hyperparakeratosis, with or without epithelial dysplasia or carcinoma. It is the most common precancerous lesion of the oral cavity. Leukoplakia and erythroplasia are the 2 precancerous lesions par excellence of the oral mucosa. The risk of malignant transformation of leukoplakia with dysplasia has been reported to be high as 43% (4), hence the need for regular monitoring.

Increased malignant potential may be associated with certain clinical characteristics such as lesion type, size, and site, dysplasia, and tobacco use. Nevertheless, no clear correlation has been found between clinical and pathologic diagnosis because seemingly similar lesions may be histologically different. This highlights the need for epidemiological studies to determine clinical and histopathologic characteristics of leukoplakia that shed light on the behavior of these lesions and contribute to the early detection of oral cancer (3).

Objectives

1. To determine the most common lesion sites and clinical oral forms in a series of 54 patients and determine possible etiologic factors.
2. To establish a correlation between the clinical and pathologic diagnosis of oral leukoplakia, with a focus on epithelial dysplasia.

Materials and Methods

We reviewed the clinical records of 54 patients who were diagnosed with oral leukoplakia both clinically and histologically at the unit attached to the Master Degree Course in Oral Medicine, Oral Surgery, and Implantology at Universidad de Santiago de Compostela, Spain, between 2002 and 2008. All the biopsy samples had been preserved in 10% formaldehyde and sent to the pathology department at Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, where they were analyzed by the same pathologist.

We analyzed the following variables: sex, age, place of residence (urban vs rural environment, defined as having fewer than 2000 inhabitants), personal and family history of cancer, tobacco and alcohol use, mouthwash use, concomitant systemic diseases, response to previous treatment, lesion site, presence of single or multiple lesions, lesion surface, symptoms, time since onset, treatment, type of leukoplakia, lesion color and size (largest diameter), keratosis, and dysplasia.

All the data were analyzed using version 15.0 of SPSS for Windows. Statistical significance was set at a p value of $<.05$.

Results

Oral leukoplakia lesions were more common in men than in women (59.3% vs 40.7%), which corresponds to a male to female ratio of 1.45:1.

The mean (SD) age of the patients was 62.57 (12.75) years, with a range of 33 to 92 years.

The majority of patients (79.6%) were aged between 50 and 79 years (Fig. 1).

As can be seen in figure 2, there was a tendency for oral leukoplakia to present earlier in men (mean age, 60 years) than in women (mean age, 66.27 years).

Almost two-thirds of the patients (63%) lived in an urban environment, contrasting with 37% who lived in a rural environment.

A personal and family history of cancer was detected in 7.4% and 41.7% of the patients, respectively.

On analyzing smoking, we found that 48.1% of the patients were non-smokers, 33.3% were smokers, and 18.5% were ex-smokers. Within the group of smokers, 50% smoked black tobacco and a slightly lower percentage (44.4%) smoked blond tobacco. A single patient smoked a pipe.

Most smoked more than 20 cigarettes a day. The second largest group smoked 10-20 cigarettes a day, and the smallest group smoked fewer than 10 cigarettes a day. None of the ex-smokers had smoked fewer than 10 cigarettes a day and the majority had smoked 10- 20 cigarettes a day.

All the smokers had been smoking for more than 10 years, with a majority (29.6%) reporting a smoking history of more than 20 years. Most of the ex-smokers had

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2010 Nov 1;15 (6):e832-8.

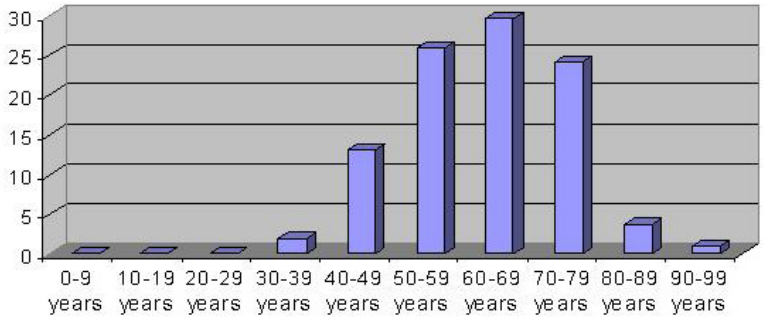


Fig. 1. Percentage distribution of leukoplakia by age group.

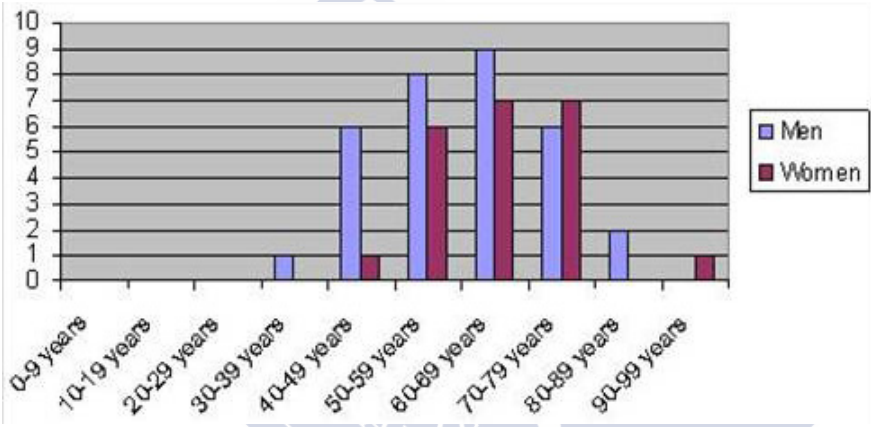


Fig. 2. Association between age and sex.

quit over 10 years previously. The next largest group had quit between 1 and 4 years earlier, followed by those who had quit between 5 and 9 years earlier. Only 1 patient had quit the habit in the preceding year.

We found that patients who smoked black tobacco smoked more than those who smoked blond tobacco. In the black tobacco group, for example, 77.8% smoked more than 20 cigarettes and the remaining 22.2% smoked 10-20 cigarettes a day. In the blond tobacco group, 62.5% smoked between 10 and 20 cigarettes a day, 25% smoked fewer than 10 cigarettes a day, and just 12.5% smoked more than 20 cigarettes a day. All of the patients who smoked black tobacco (n=9) had been smoking for more than 20 years. Of those who smoked blond tobacco, 75% had been smoking for more than 20 years and 25% had started between 10 and 20 years previously.

Over half of the group (55.6%) did not drink alcohol; 1.9% drank occasionally, 33.3% drank less than 500 cc a day, 5.6% drank more than 500 cc day, and the remaining 3.7% were ex-alcoholics. Almost all of those who drank (90.9%) drank wine and/or beer only. The remaining 9.1% drank wine, beer, and spirits. Patients who smoked the most were also regular drinkers (significant association, p=.01).

The most common systemic diseases were hypercholesterolemia and rheumatic diseases (both detected in 16.7% of the sample).

The lateral aspect of the tongue was the most common lesion site (25.9% of patients), followed by the gums (18.5%), the buccal mucosa (16.7%), the floor of the mouth (9.3%) the palate, lip, and ventral surface of the tongue (each 7.4%), and, finally, the dorsal surface of the tongue and behind the commissures (each, 3.7%). The

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2010 Nov 1;15 (6):e832-8. Clinical and pathologic correlation in oral leukoplakia

most common sites in younger patients were the commissure areas (mean age, 44 years) and the palate (mean age, 53.5 years). In elderly patients, the most common sites were the dorsal surface of the tongue (mean age, 72 years), the lip (mean age, 66 years), and the floor of the mouth (65.2 years). The most common lesion sites in men were the buccal mucosa and the floor of the mouth; in women, they were the lateral aspect of the tongue and the gums. The lips were equally affected in men and women. The association between sex and lesion site was not statistically significant (p>.05). More patients had single lesions than multiple lesions (61.1% vs 39.9%).

Almost half (48.1%) of the patients did not remember when the lesions had appeared; 31.5% reported a time since onset of over 12 months. The other times since onset reported were 3 to 6 months (9.3%), under 3 months (7.4%), and 6 to 12 months (3.7%).

Homogeneous leukoplakia was the most common type of leukoplakia detected (present in 51.9% of patients), followed by verrucous leukoplakia (35.2%), erythroleukoplakia (9.3%), and nodular leukoplakia (3.7%). One of the 2 patients with erythroleukoplakia had mottled leukoplakia. The most common sites by type of leukoplakia were the lateral aspect of the tongue for homogeneous leukoplakia, the gums for verrucous leukoplakia, and the gums and behind the commissures for nodular leukoplakia. The buccal mucosa was involved in the patient with mottled leukoplakia.

The mean (SD) lesion size was 2.2 (1.54) cm. Based on the classification system proposed by Axéll et al (1), half of the lesions were L1 lesions (<2 cm), 38.9% were L2 lesions (2-4 cm), and the remaining 11.1% were L3 lesions (>4 cm).

On reviewing the histopathologic results, we observed that 74.1% of lesions had no dysplastic features; 93% had mild dysplastic features, 3.7% had moderate dysplastic features, 7.4% had severe dysplastic features or carcinoma in situ, and 5.6% had invasive carcinoma. Degree of dysplasia was significantly associated with type of leukoplakia (p=.007) (Table 1) but not with lesion size.

Dysplasia was significantly more common in patients with a family history of cancer than in those without (p=.02) but we found no association between degree of dysplasia and personal history of cancer. We observed a trend, without statistical significance, towards a predominance of no dysplastic features in younger patients. All of the cases of invasive carcinoma were in patients in their 60s. Although also without statistical significance, lesions with moderate or severe dysplasia or invasive carcinoma were more common in women, something which is worth considering as a possible marker for poor prognosis (Fig. 3).

The association between lesion site and degree of dysplasia was not statistically significant (Table 2). We also found no association between clinical surface and degree of dysplasia. It is noteworthy that only 1 of the 3 carcinomas diagnosed caused pain.

No significant association was found between lesion size and degree of dysplasia. According to the staging system proposed by van der Waal & Axéll (3) van der Waal et al (5), 38.9% of the lesions were stage I, 33.3% were stage III, 11.1% were stage II, and 3.7% were stage IV. Of the 54 patients analyzed, 7 had carcinoma, 4 of which were staged as TisNoMo and 3 of which were staged as T1NoMo.

Table 1. Comparison of clinical type of leukoplakia and degree of dysplasia

Degree of dysplasia	*Clinical type*					
	Homogenous leukoplakia	Non-homogeneous leukoplakia	Nodular leukoplakia	Erythroleukoplakia	Mottled leukoplakia	Total
None	24 (44.4%)	13 (24.1%)	2 (3.7%)	-	1 (1.9%)	40 (74.1%)
Mild	3 (5.6%)	2 (3.7%)	-	-	-	5 (9.3%)
Moderate	1 (1.9%)	1 (1.9%)	-	-	-	2 (3.7%)
Severe dysplasia or Carcinoma in situ	-	2 (3.7%)	-	2 (3.7%)	-	4 (7.4%)
Invasive carcinoma	-	1 (1.9%)	-	2 (3.7%)	-	3 (5.6%)
Total	28 (51.9%)	19 (35.3%)	2 (3.7%)	4 (7.4%)	1 (1.9%)	54 (100%)

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2010 Nov 1;15 (6):e832-8. Clinical and pathologic correlation in oral leukoplakia

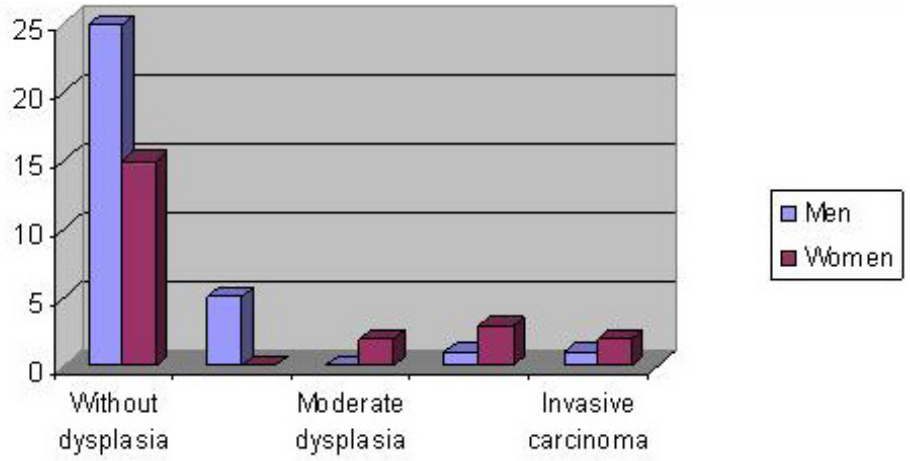


Fig. 3. Percentage association between degree of dysplasia and sex.

Table 2. Association between degree of dysplasia and lesion site

Degree of dysplasia	*Lesion site*									
	Lateral aspect of tongue	Ventral aspect of tongue	Dorsal aspect of tongue	Gums	Buccal mucosa	Behind commissures	Floor of mouth	Palate	Lip	Total
None	6 (11.1%)	2 (3.7%)	2 (3.7%)	9 (16.7%)	7 (13%)	2 (3.7%)	4 (7.4%)	4 (7.4%)	4 (7.4%)	40 (74.1%)
Mild	1 (1.9%)	2 (3.7%)	-	-	2 (3.7%)	-	-	-	-	5 (9.3%)
Moderate	2 (3.7%)	-	-	-	-	-	-	-	-	2 (3.7%)
Severe dysplasia or carcinoma in situ	3 (5.6%)	-	-	-	-	-	1 (1.9%)	-	-	4 (7.4%)
Invasive carcinoma	2 (3.7%)	-	-	1 (1.9%)	-	-	-	-	-	3 (5.6%)
Total	*14 (26%)*	*4 (7.4%)*	*2 (3.7%)*	*10 (18.5%)*	*9 (16.7%)*	*2 (3.7%)*	*5 (9.3%)*	*4 (7.4%)*	*4 (7.4%)*	*54 (100%)*

Discussion

Our observation that leukoplakia was slightly more common in men than in women is consistent with the majority of reports from the literature (6-8), although there is a tendency for the difference in frequency between sexes to decrease (male to female ratio in our study, 1.45:1). This may be because smoking is becoming increasingly common in women. Like us, Scheifele et al (9) found that leukoplakias were diagnosed earlier in men than in women, although in our case the difference was not statistically significant. In the study by Scheifele et al, conducted in the USA in 2003, the most common age group for the diagnosis of leukoplakia was 40-49 for men. In women, it was 70 years and above. In our series, the majority age group for diagnosis in both men and women was the sixth decade of life.

In our sample of 54 patients, 79.6% of the lesions were diagnosed in patients between the ages of 50 and 79. In a study conducted in India in 2005, however, Mishra et al (10) reported that the most common age group for the diagnosis of oral leukoplakia was 21-30, followed, in

order, by the 31-40, 41-50, and 11-20 age groups. These data are striking as they contradict other reports. They might be due to lifestyle habits (fundamentally smoking, which is highly prevalent in India) and/or reflect idiosyncrasies of the sample.

Our findings are consistent with previous reports of both a cause-and-effect relationship between tobacco and leukoplakia (7,11-13) and a dose-response relationship (13). Indeed, it is well known that lesions improve in patients who quit smoking. Fisher et al (14), in contrast, in a case control study, did not find a significant association between oral leukoplakia and the daily use of alcohol and smoking, possibly because of an inadequate sample size. They did, however, find a significant association for chewing tobacco.

Morse et al (8) observed that alcohol consumption was more strongly associated with oral carcinoma than with epithelial dysplasia, particularly where drinks such as beer and spirits and high consumption levels were concerned. Our findings are consistent with these observations as in our series 55% of the patients did not drink and within the group of drinkers, only 6% drank more than 500 cc of alcohol a day.

Dietrich et al (15) found a significant association between the prevalence of oral leukoplakia and diabetes mellitus. We were unable to confirm this association due to the small proportion of patients with diabetes in our series (5.6%). Hypercholesterolemia and rheumatic diseases were the most common systemic diseases in our series. Consequently, perhaps the possible influence of hypercholesterolemia on the development of leukoplakia should be further investigated. Nonetheless, the high proportion of patients with hypercholesterolemia and rheumatic disease detected in our series might be simply due to the relatively advanced ages of the patients in our series as many of these diseases tend to occur in the later decades of life. It is also worthy of note that 35.2% of our sample had no systemic disease.

Scheifele et al (9) found that 52.3% of patients with homogeneous leukoplakia smoked; the corresponding percentage for those with non-homogeneous leukoplakia was 66.7%. The percentage of smokers in the homogenous leukoplakia group in our series was significantly higher, at 46.43%, contrasting with just 19.23% in the non-homogeneous leukoplakia group. Nevertheless, the association between smoking and lesion type was not statistically significant in our study.

Zhang et al (16) reported that certain areas of the oral cavity (the floor of the mouth, the ventral and lateral aspects of the tongue, and the soft palate) had greater malignant potential and that lesions located in low-risk zones were genetically different to those located in high-risk zones (containing genetic profiles associated with carcinoma in progression). We also believe that lesions in certain sites present a greater risk of malignant transformation as the carcinomas detected in our series were located on the lateral aspect of the tongue, the gums, and the floor of the mouth. Nonetheless, in a recent study of leukoplakia, Holmstrup et al (12) found that malignant potential was independent of lesion site.

Mishra et al (10) observed that 0.54% of nodular leukoplakias, 15.2% of verrucous leukoplakias, and 20% of mottled leukoplakias were histologically diagnosed as malignant. In our series, the corresponding figures were 100% for erythroleukoplakias and 15.8% for verrucous leukoplakias, suggesting that certain clinical types of lesions have a tendency to become malignant. The association between type of lesion and degree of dysplasia in our series was statistically significant (p=.007). It is widely accepted that epithelial dysplasia and the risk of malignant transformation are considerably less common in homogeneous leukoplakias, but this does not obviate the need for a biopsy.

Because the value of assigning a clinical score to degree of dysplasia has been questioned, a number of studies in recent years have been conducted to develop cellular and molecular markers capable of indicating the risk of malignant transformation of dysplastic epithelium and to predict behavior over time, something which cannot be done effectively with degree of dysplasia (11,17). While promising, however, such techniques have still not succeeded in replacing conventional histopathology but they have gained a position as complementary methods. There is no doubt that advances in molecular biology will provide improved tools for the diagnostic and prognostic evaluation of dysplastic lesions. Even though the diagnosis of dysplasia is essentially subjective and certain recent studies have failed to find an association between degree of dysplasia and subsequent development of leukoplakia lesions, a histologic finding of epithelial dysplasia is currently considered to be the best indication of the existence of a greater risk of malignant transformation.

Conclusions

1. The most common lesion site in our series was the lateral aspect of the tongue.
2. Homogeneous leukoplakia with the most common clinical form.
3. Tobacco was the main causative agent identified but the role of alcohol should not be ignored.
4. Certain sites, such as the lateral aspect of the tongue, the floor of the mouth, and the gums, are associated with a greater risk of malignant transformation.
5. Erythroleukoplakias and verrucous leukoplakias have the greatest malignant potential.

References

1. Axéll T, Pindborg JJ, Smith CJ, Van der Waal I. Oral white lesions with special reference to precancerous and tobacco- related lesions: conclusions of an international symposium held in Uppsala, Sweden, May 18-21 1994. International Collaborative Group on Oral White Lesions. J Oral Pathol Med. 1996;25:49-54.
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;36:575-80.
3. Van der Waal I, Axéll T. Oral leukoplakia: a proposal for uniform reporting. Oral Oncol. 2002;38:521-6.
4. Silverman S Jr, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. Cancer. 1984;53:563-8.
5. Van der Waal I, Schepman KP, Van der Meij EH. A modified classification and staging system for oral leukoplakia. Oral Oncol. 2000;36:264-6.
6. Alvarez Lorenzo M, Blanco Carrión A, Antúnez López J, Gándara Vila P, García García A, Gándara Rey JM. [Ultrastructural differences between leukoplakia with and without dysplasia]. Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol. 2001;43:37-45.
7. Bánóczy J, Gintner Z, Dombi C. [Effect of smoking on the development of oral leukoplakia]. Fogorv Sz. 2001;94:91-6.
8. Morse DE, Psoter WJ, Cleveland D, Cohen D, Mohit-Tabatabai M, Kosis DL, et al. Smoking and drinking in relation to oral cancer and oral epithelial dysplasia. Cancer Causes Control. 2007;18:919-29.
9. Scheifele C, Reichart PA, Dietrich T. Low prevalence of oral leukoplakia in a representative sample of the US population. Oral Oncol. 2003;39:619-25.
10. Mishra M, Mohanty J, Sengupta S, Tripathy S. Epidemiological and clinicopathological study of oral leukoplakia. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2005;71:161-5.
11. Liu SC, Sauter ER, Clapper ML, Feldman RS, Levin L, Chen SY, et al. Markers of cell proliferation in normal epithelia and dysplastic leukoplakias of the oral cavity. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1998;7:597-603.
12. Holmstrup P, Vedtofte P, Reibel J, Stoltze K. Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. Oral Oncol. 2006;42:461-74.
13. Shiu MN, Chen TH, Chang SH, Hahn LJ. Risk factors for leukoplakia and malignant transformation to oral carcinoma: a leukoplakia cohort in Taiwan. Br J Cancer. 2000;82:1871-4.
14. Fisher MA, Bouquot JE, Shelton BJ. Assessment of risk factors for oral leukoplakia in West Virginia. Community Dent Oral Epidemiol. 2005;33:45-52.
15. Dietrich T, Reichart PA, Scheifele C. Clinical risk factors of oral leukoplakia in a representative sample of the US population. Oral Oncol. 2004;40:158-63.
16. Zhang L, Cheung KJ Jr, Lam WL, Cheng X, Poh C, Priddy R, et al. Increased genetic damage in oral leukoplakia from high risk sites: potential impact on staging and clinical management. Cancer. 2001;91:2148-55.
17. Santos-García A, Abad-Hernández MM, Fonseca-Sánchez E, Julián-González R, Galindo-Villardón P, Cruz-Hernández JJ, et al. E-cadherin, laminin and collagen IV expression in the evolution from dysplasia to oral squamous cell carcinoma. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2006;11:E100-5.

Acknowledgments
This study was supported by FONACIT grant number 2005 00408 and CDCH UCV PG 10-006522-2006

Vol. 102 No. 2 August 2006

Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology

ORAL AND MAXILLOFACIAL PATHOLOGY *Editor: Mark W. Lingen*

Clinicopathologic aspects of oral leukoplakia in smokers and nonsmokers

Marcio Diniz Freitas, DDS, PhD,[a] Andrés Blanco-Carrión, MD, DDS, PhD,[b] Pilar Gándara-Vila, DDS,[c] José Antúnez-López, MD, PhD,[d] Abel García-García, MD, PhD,[e] and José Manuel Gándara Rey, MD, DDS, PhD,[f] Santiago de Compostela, Spain
UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA.

Objective. The present study assessed possible clinicopathologic differences between oral leukoplakia in current smokers and never-smokers.
Study design. Retrospective study of 52 patients with oral leukoplakia. Clinical and pathologic data (age, sex, lesion size, lesion location, and presence/absence of dysplasia) were compared between 41 current-smoking patients and 11 never-smoking patients.
Results. The mean age of the smoking patients was 49 yrs, significantly lower than the never-smoking patients (59 yrs) ($P < .05$). The proportion of women was markedly and significantly higher in the never-smoker group than in the smoker group (82% vs. 22%). The odds ratio for lesions on the tongue (0.80, 95% CI 0.01-0.37) was statistically significant at the 5% level (i.e., 95% CI). Dysplastic lesions were observed most frequently in the never-smoking patients, and this difference was statistically significant ($P = .026$).
Conclusions. The results of the present study indicate that nonsmoking-related oral leukoplakia lesions are more frequent among women than among men, are more likely to be located on the tongue than smoking-related lesions, and show epithelial dysplasia more frequently than smoking-related lesions.
(Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006;102:199-203)

Leukoplakia is the most frequent premalignant lesion of the oral cavity.[1,2] Several studies have shown that the risk of oral leukoplakia is 4-6 times higher in smokers than in nonsmokers.[3,4] It has recently been suggested that oral leukoplakia lesions in smokers occur preferentially in particular locations in the oral cavity.[5] With the aim of assessing whether this is the case, the present study examined clinicopathologic differences between smoking and never-smoking oral leukoplakia patients.

[a]Postgraduate Student, Department of Oral Surgery and Oral Medicine, School of Dentistry, University of Santiago de Compostela.
[b]Professor, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, University of Santiago de Compostela.
[c]Assistant Professor, Department of Oral Surgery, School of Dentistry, University of Santiago de Compostela.
[d]Department of Pathology, Clinical University Hospital, University of Santiago de Compostela.
[e]Head of Section, Department of Maxillofacial Surgery, Clinical University Hospital, University of Santiago de Compostela.
[f]Professor, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, University of Santiago de Compostela.
Received for publication Nov 21, 2005; returned for revision Nov 29, 2005; accepted for publication Dec 2, 2005.
1079-2104/$ - see front matter
© 2006 Mosby, Inc. All rights reserved.
doi:10.1016/j.tripleo.2005.12.009

MATERIAL AND METHODS

Patient selection

A retrospective study was performed based on analysis of clinical records of all 73 patients diagnosed with oral leukoplakia and seen at the Oral Medicine and Surgery Unit of the Dentistry Faculty of the University of Santiago de Compostela over the period 1997-2002. Oral leukoplakia had in all cases been diagnosed by the criteria of Axéll et al.,[1] i.e., predominantly white oral lesions not diagnosable as any other well defined lesion type. On the basis of clinical records, for each patient we recorded age, gender, reported smoking status, and lesion location and size at the moment of diagnosis. Reported smoking status was obtained by a standardized questionnaire regarding tobacco smoking habits.

Table I. Classification of the 52 patients by lesion location

Location	*Smokers*	*Nonsmokers*	*Total*
Buccal mucosa	11	1	12
Alveolar ridge	3	1	4
Floor of mouth	9	1	10
Tongue	5	7	12
Lip	2	0	2
Soft palate	3	0	3
Hard Palate	3	0	3
Multiple locations	5	1	6
Total	41	11	52

Table II. Smoker-versus-nonsmoker odds ratio for the most frequent lesion locations

Location	*OR*	*95% CI*
Buccal mucosa	0.27	0.31–2.38
Alveolar ridge	1.27	0.12–13.52
Tongue	0.80	0.01–0.37
Floor of mouth	2.81	0.32–24.99
Multiple locations	0.72	0.75–6.89

OR, odds ratio. CI, confidence interval.

Regarding tobacco smoking habits, of the initial total of 73 patients, 21 were excluded frrom the study because reliable information on reported smoking status had not been included in the clinical record. The remaining 52 patients were divided into 2 groups: current smokers (regular smoking at the time of diagnosis and for at least 1 yr previously) and never-smokers (patients who reported that they had never smoked). None of the 52 patients were classifiable as former smokers (i.e., smoking at some time previously but not at time of diagnosis).

Lesion location was categorized as shown in Table I. In patients in whom biopsies had been taken for histopathologic study (54%), biopsy location was based on clinical judgement and on manifestations including reddish or verrucous components, ulceration, or hardness on palpation. According to histopathologic findings, the lesions were classified as dysplastic or nondysplastic. Lesions were also classified by the staging system of van der Waal and Axéll.[6,7] No reliable information was available in the records as to why no biopsy was taken in 22 patients.

Statistical analysis

Possible relationships between smoking and lesion location were investigated by estimation for each location of the smokers-versus-nonsmokers odds ratio. Differences between means were assessed by the chi-squares and Student *t* tests, taking $P < .05$ to indicate statistical significance.

RESULTS

As noted, 41 (79%) of the 52 patients were current smokers and 11 (21%) were never-smokers. Of the 41 smokers, 32 (78%) were men and 9 (22%) women. Of the 11 never-smokers, 2 (18%) were men and 9 (82%) women. The proportion of women was significantly higher in the never-smoker group than in the smoker group (82% vs. 22%; $P < .005$). Mean age in the smoker group was 49.2 ± 16.3 yrs vs. 59.4 ± 12.6 yrs in the nonsmoker group. This difference was statistically significant ($P = .039$).

The locations of the lesions in the smoker and never-smoker groups are summarized in Table I. Table II shows smoker-versus-nonsmoker odds ratios for the most frequent locations (buccal mucosa, alveolar ridge, floor of mouth, tongue, and multiple locations). The odds ratio for lesions on the tongue (0.80, 95% confidence interval (CI) 0.01-0.37) was statistically significant at the 5% level (i.e., 95% CI not including unity): In other words, location of the lesion on the tongue is significantly more likely among never-smokers than among smokers. Buccal mucosa and the floor of the mouth were the most frequent locations among smokers, but the corresponding smoker-versus-nonsmoker odds ratios were in neither case statistically significant (0.27, 95% CI 0.31-2.38; and 2.81, 95% CI 0.32-24.99; respectively).

In the smoker group, lesion size was <2 cm in 24 patients (62%), between 2 and 4 cm in 12 patients (31%), and >4 cm in 3 patients (8%). In the never-smoker group, lesion size was <2 cm in 6 patients (55%), and between 2 and 4 cm in 5 patients (45%). The 2 frequency distributions do not differ significantly (chi-squared test, $P = .482$).

Biopsies for histopathologic studies were obtained from 28 (54%) of the 52 patients: 20 smokers and 8 never-smokers. In the smoker group, a dysplastic lesion was observed in only 1 (5%) of the 20 patients; in the never-smoker group, dysplastic lesions were observed in 3 (38%) of the 8 patients (Figs. 1 and 2). These percentages are significantly different (Fisher exact test, $P = .026$) (Table III). Of the 4 dysplastic lesions, 3 were located on the tongue and 1 on the floor of the mouth.

DISCUSSION

Smoking is the only known major external etiologic factor in oral leukoplakia.[8] The influence of smoking on oral leukoplakia risk has been clearly demonstrated

Table III. Presence/absence of epithelial dysplasia in the 28 patients for whom lesion biopsies were analysed

	Epithelial dysplasia	
Smoking status	*No*	*Yes*
Smokers	19 (95%)	1 (5%)
Nonsmokers	5 (62.5%)	3 (37.5%)
Total	24 (86.7%)	4 (13.3%)

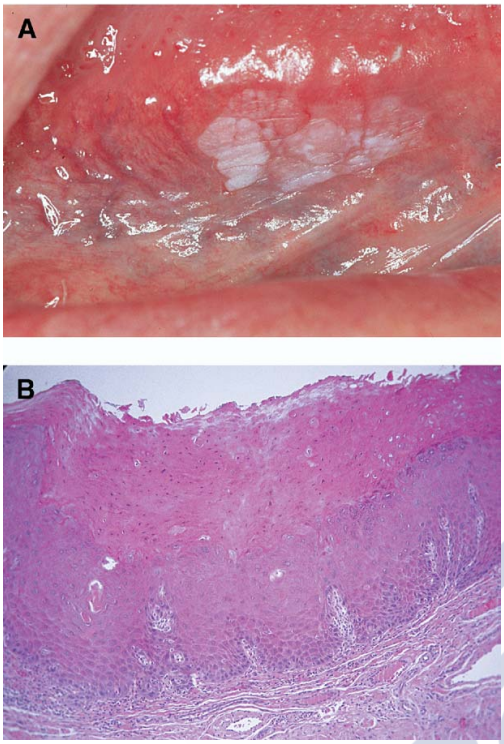


Fig. 1. **A,** Leukoplakia on the lateral edge of the tongue in a female never-smoker. Lesion length about 1.5 cm. **B,** Biopsy of the lesion in *A*, showing mild epithelial dysplasia (haematoxylin-eosin, 20×). Stage II (L1 P1). Diagnostic confidence level C3.

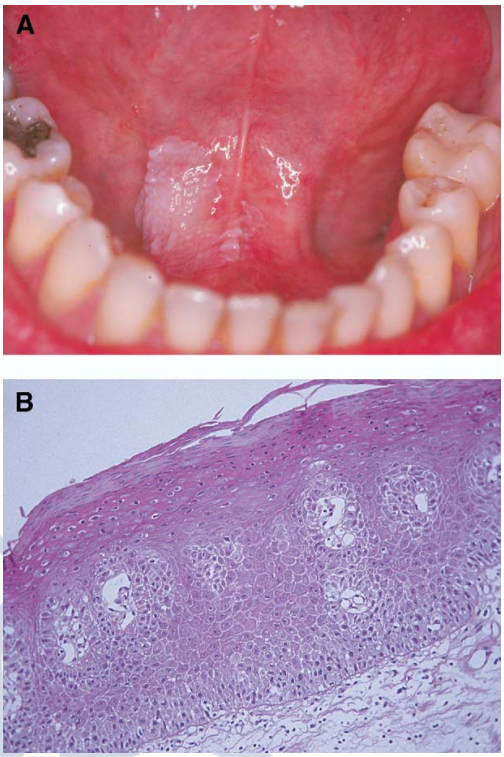


Fig. 2. **A,** Leukoplakia on the floor of the mouth in a male smoker. Lesion length about 1.3 cm. **B,** Biopsy of the lesion in *A*, showing absence of epthelial dysplasia (haematoxylin-eosin, 20×). Stage I (L1 P0). Diagnostic confidence level C3.

in longitudinal studies.[9] A dose-response relationship has also been demonstrated, i.e., risk increases with increasing number of cigarettes per day.[10] About 60% of oral leukoplakias disappear if the patient stops smoking.[11] The ratio of smokers to never-smokers among oral leukoplakia patients in the present study was similar to that reported in previous studies: For example, Hogewind and Van der Waal[4] found that 64% of oral leukoplakias were associated with smoking, and the remaining 36% were idiopathic.

Although alcohol is a risk factor for oral cancer,[12,13] it is not an established risk factor for oral leukoplakia.[14] The clinical records used for patient characterization in the current study did not contain consistent information on alcohol use, so we were unable to evaluate the possible importance of this factor for our patients.

Of the total of 52 patients, 65% were men, in line with most previous studies which have found a higher prevalence in men.[2,3,15] Likewise, 78% of the patients in our smoker group were men. In our never-smoker group, however, 82% of the patients were women. In a previous study of 166 patients with oral leukoplakia,[16] 54% of all patients, and 57% of nonsmoking patients were women. The higher proportion of women in the nonsmoker group has particular clinical relevance, because it has been reported that the risk of malignant transformation is highest in women nonsmokers,[16,17] for unknown reasons.

The mean age of our never-smoking patients (59 yrs) was significantly higher than that of our smoking patients (49 yrs). This is in line with Schepman et al.,[16] who found that nonsmoking oral leukoplakia patients had higher mean age than smoking patients.

In the analysis of possible differences in lesion location between smokers and never- smokers, we found a significant difference only in the tongue location, which was significantly more likely among never-smokers than among smokers. A similar result was obtained by Schepman et al.[16] However, those authors

also found that lesions on the floor of the mouth were significantly more frequent among smokers than among nonsmokers, both in men and women, whereas lesions in the buccal mucosa were significantly more frequent among male smokers than among male nonsmokers. In the present study the buccal mucosa and the floor of the mouth were the most frequent locations among smokers, but the corresponding smoker-versus-nonsmoker odds ratios were in neither case statistically significant. Separate analyses for each gender were not possible in view of our relatively small sample size. The apparent preferential localization of smokers′ lesions in the buccal mucosa and floor of the mouth may be attributable to acumulation of tobacco-smoke toxins in saliva.[18] In addition, spatial variations in the degree of keratinization and permeability of the oral mucosa may modulate the local effects of tobacco-smoke toxins.[19,20]

Lesion size did not differ significantly between smokers and never-smokers (chi-squared test to compare size distributions), though lesions larger than 4 cm were found only in the smoker group. Bagán et al.[21] likewise did not find significant differences in lesion size depending on apparent cause (mechanical trauma, smoking, or idiopathic), though the mean number of lesions per patient was significantly higher among smokers. In the present study, the presence of lesions in multiple locations was more frequent among smokers than among never-smokers, but the difference was not statistically significant.

Epithelial dysplasia was less frequent (14%) among our patients than in previously reported series.[11,15] In addition, dysplasia was detected in only 5% of biopsied smoking patients vs. 38% of biopsied never-smoking patients. This finding, and other similar findings (notably lower rates of malignant transformation in smoking-related leukoplakias than in nonsmoking-related leukoplakias)[17,22] are of interest given that tobacco smoking is the most important etiologic factor in squamous cell carcinoma of the oral cavity.[23] In contrast, Bagán et al.,[21] in their study of 110 cases of oral leukoplakia (classified as due to mechanical trauma, due to smoking, or idiopathic), did not detect dysplasia in any of the 12 biopsied patients with idiopathic leukoplakia.

CONCLUSION

The results of the present study indicate that nonsmoking-related oral leukoplakia lesions: 1) are more frequent among women than among men; 2) are more likely to be located on the tongue than smoking-related lesions; and 3) show epithelial dysplasia more frequently than smoking-related lesions. Nevertheless, these conclusions must be considered as preliminary, not definitive, in view of our small sample size.

REFERENCES

1. Axéll T, Pindborg JJ, Smith CJ, van der Waal I, International Collaborative Group on Oral White Lesions. Oral white lesions with special reference to precancerous and tobacco-related lesions: conclusions of an international symposium held in Uppsala, Sweden, May 18-21, 1994. J Oral Pathol Med 1996;25:49-54.
2. Axell T. Ocurrence of leukoplakia and some other oral white lesions among 20,333 adult Swedish people. Community Dent Oral Epidemiol 1987;15:46-51.
3. Baric JM, Alman JE, Feldman RS, Chaucey HH. Influence of cigarette, pipe and cigar smoking, removable partial dentures and age on oral leukoplakia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1982;54:424-9.
4. Hogewind WFC, van der Waal I. Prevalence study of oral leukoplakia in a selected population of 1,000 patients from Netherlands. Community Dent Oral Epidemiol 1988;16: 302-5.
5. Schepman KP, Bezemer PD, van der Meij EH, van der Waal I. Tobacco usage in relation to the anatomical site of oral leukoplakia. Oral Dis 2001;7:25-7.
6. van der Waal I, Schepman KP, van der Meij EH. A modified classification and staging system for oral leukoplakia. Oral Oncol 2000;36:264-6.
7. van der Waal I, Axéll T. Oral leukoplakia: a proposal for uniform reporting. Oral Oncol 2002;38:521-6.
8. Axéll T, Holmstrup P, Kramer IRH, Pindborg JJ, Shear M. International Seminar on Oral Leukoplakia and Associated Lesions Related to Tobacco Habits. Community Dent Oral Epidemiol 1984;12:145-54.
9. Banoczy J, Gintner Z, Zombi C. Tobacco use and oral leukoplakia. J Dent Educ W2001;65:322-7.
10. Roed Petersen B. Effect on oral leukoplakia of reducing or ceasing tobacco smoking. Acta Derm Venereol 1982;62:164-7.
11. Banoczy J, Rigo O. Prevalence study of precancerous lesions within a complex screening system in Hungary. Community Dent Oral epidemiol 1991; 19:265-7.
12. Sankaranarayanan R, Duffy SW, Day NE, Nair MK, Padmakumary G. A case-control innvestigation of cancer of the oral tongue and floor of the mouth in southern India. Int J Cancer 1989;44:617-21.
13. Sankaranarayanan R, Duffy SW, Padmakumary G, Day NE, Krishan NM. Risk factors for cancer of the buccal and labial mucosa in Kerala, southern India. J Epidemiol Community Health 1990;44:286-92.
14. Evstfeeva TV, Zaridze DG. Nass use, cigarette smoking, alcohol consumption and risk of oral and oesophageal precancer. Eur J Cancer B Oral Oncol 1992;28:29-35.
15. Bouquot JE, Gorlin RJ. Leukoplakia, lichen planus, and other oral keratoses in 23,616 white Americans over the age of 35 years. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1986;61:373-81.
16. Schepman KP, van der Meij EH, Smeele LE, van der Waal I. Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from Netherlands. Oral Oncol 1998;34:270-5.
17. Silverman S, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up of 257 patients. Cancer 1884;53:563-8.
18. Lederman M. The anatomy of cancer. J Laryngol Otol 1964;78:181-208.
19. Mashberg A, Meyers H. Anatomical site and size of 222 early asymptomatic oral squamous cell carcinoma: a continuing prospective study of oral cancer; II. Cancer 1976;37:2149 57.
20. Lesch CA, Squier CA, Ceuchley A, Williams DM, Speight P.

The permeability of human oral mucosa and skin to water. J Dent Res 1989;68:181-208.
21. Bagán JV, Vera F, Milian MA, Peñarrocha M, Silvestre FJ, Sanchis JM. Leucoplassia oral: Estudio clínico patológico de 110 casos. Arch Odontoestomatol 1993;9:127-38.
22. Einhorn J, Ersall J. Incidence of oral carcinoma in patients with leukoplakia of the oral mucosa. Cancer 1967; 2189-93.
23. Richart PA. Identification of risk groups for oral precancer and cancer and preventive measures. Clin Oral Invest 2001;5:207-13.

Reprint requests:

Marcio Diniz Freitas, PhD
Oral Surgery and Oral Medicine Unit
Calle Entrerríos s/n
Santiago de Compostela, La Coruna
University of Santiago de Compostela
Spain 15703
cidinizm@usc.es

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012 Jan 1;17 (1):e5-9.

Journal section: Oral Medicine and Pathology
Publication Types: Research

doi:10.4317/medoral.17275
http://dx.doi.org/doi:10.4317/medoral.17275

Applications of OralCDx ® methodology in the diagnosis of oral leukoplakia

Flavio Seijas-Naya [1], Tamara García-Carnicero [2], Pilar Gándara-Vila [3], Elena Couso-Folgueiras [4], Mario Pérez-Sayáns [5], Rafael Gándara-Vila [6], Abel García-García [7], José-Manuel Gándara-Rey [8]

[1] Dental surgeon. Student of the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology; Faculty of Dentistry of the University of Santiago de Compostela
[2] Dental surgeon. Student of the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology; Faculty of Dentistry of the University of Santiago de Compostela
[3] Dental surgeon. Professor of the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology; Faculty of Dentistry of the University of Santiago de Compostela
[4] Biologist Anatomical Pathology Technician at the Anatomical Pathology Unit of the Santiago de Compostela Teaching Hospital
[5] PhD in Dental Surgery Associate Professor of the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology; Faculty of Dentistry of the University of Santiago de Compostela
[6] Dentist. Collaborator of the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology; Faculty of Dentistry of the University of Santiago de Compostela
[7] Maxillofacial surgeon Professor of Oral Surgery Director of the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology; Faculty of Dentistry of the University of Santiago de Compostela. Head of the Maxillofacial Surgery Unit of the Santiago de Compostela Teaching Hospital
[8] Stomatologist Professor of Oral Medicine Director of the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology; Faculty of Dentistry of the University of Santiago de Compostela

Correspondence:
Master of Oral Medicine
Oral Surgery and Implantology
Facultad de Odontología
c/ Entrerrios, s/n. 15782
Santiago de Compostela- A Coruña
josemanuel.gandara@usc.es

Received: 30/08/2010
Accepted: 16/01/2011

Seijas-Naya F, García-Carnicero T, Gándara-Vila P, Couso-Folgueiras E, Pérez-Sayáns M, Gándara-Vila R, García-García A, Gándara-Rey JM. Applications of OralCDx ® methodology in the diagnosis of oral leukoplakia. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012 Jan 1;17 (1):e5-9.
http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v17i1/medoralv17i1p5.pdf

Article Number: 17275 http://www.medicinaoral.com/
© Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - pISSN 1698-4447 - eISSN: 1698-6946
eMail: medicina@medicinaoral.com
Indexed in:
Science Citation Index Expanded
Journal Citation Reports
Index Medicus, MEDLINE, PubMed
Scopus, Embase and Emcare
Indice Médico Español

Abstract

Objective: We aim to evaluate the effectiveness of the brush biopsy technique using OralCDx ® (OralScan Laboratories Inc., Suffern, NY) as a new method for early diagnosis and control of a "potentially malignant disorder" such as oral leukoplakia. Design of the study: We performed a study in which samples were taken using OralCDx ® on 24 patients who visited the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology of the University of Santiago de Compostela between February 2009 and May 2010. These patients presented clinical and histological lesions that were consistent with oral leukoplakia. We evaluated the relationship between the keratinization degree of the lesions and cell representation; the diagnosis obtained through OralCDx ® and biopsies; and sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV). Results: 50% of patients were men and 50% women with an average age of 62.38 years. The Kappa coefficient relating keratinization of lesions and cell representation was 0.33, the OralCDx ® - biopsy diagnostic rate reached a Kappa value of 0.66, recording 72.7%,

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012 Jan 1;17 (1):e5-9. OralCDx ® and oral leukoplakia

sensitivity and 92.3% specificity, PPV was 88.8%, while NPV reached 80%. Conclusions: cytology sampling with OralCDx ® showed high sensitivity and specificity values, which make it a good tool for monitoring oral leukoplakia, but nowadays the most reliable method that allows us to confirm the exact diagnosis of the lesions and their anatomical and pathological characteristics still is conventional biopsy using a surgical scalpel.

Key words: *OralCDx®, brush biopsy, oral leukoplakia.*

Introduction

Oropharyngeal cancer is the sixth most common malignancy worldwide (1). Among these cases, oral cancer accounts for approximately 650,000 new cases each year (2). In Western countries it represents 2-4% of all malignancies (3). 40% of head and neck tumors are Oral Squamous Cell Carcinomas (OSCC) (2), amounting to 90% of the total of all those affecting the oral cavity (4). Early detection of oral cancer in early stages affects the chances of survival significantly (1) thus improving the quality of life of these patients after undergoing treatment (3).

Survival of OSCC patients has not improved over the last 30 years (5); the 5-year survival rate reaches 80% in cases detected at the initial stage, 40% in cases of regional involvement, and less than 20% in cases with distant metastasis (2). The delay in diagnosis is due to the fact that patients do not seek oral care for an unusual oral situation which is coupled with health professionals' lack of knowledge about these lesions (4).

The aforementioned terms, such as "precancerous lesion", "precancerous condition" or "intraepithelial neoplasia" have been replaced in May 2005 by the World Health Organization in collaboration with the Center for Oral Cancer and Precancer in the United Kingdom with the term 'Potentially Malignant Disorders", which included oral leukoplakia among other illnesses (6). Early detection of these potentially malignant disorders is key in preventing an accumulation of alterations, such as dysplasia, increasing their risk of a malignant transformation (7).

Dentists therefore play an important role in early detection of malignant and premalignant conditions and should examine all patients at risk. (8,9). Biopsy is still the most accepted technique to reliably detect the nature of oral mucosal lesions, but it is a bloody test that implies undergoing surgery and the resulting technical limitations for some professionals, in addition to the procedure's psychological implications for patients (5). Due to this, it is important to develop new diagnostic techniques and instruments that can be used routinely (8).

Oral exfoliative cytology is the microscopic study and interpretation of the characteristics of oral mucosal cells that are shed (naturally or artificially), by means of a simple, non-invasive and relatively painless technique that is well accepted by patients (4). Its use had been disregarded due to its low sensitivity level that is patent in the high number of false negatives (4), possibly due to inadequate sampling, technical errors and a poor design of sampling instruments (10). The implementation of "Cytobrush" in the 90's has revived interest in oral exfoliative cytology since it increases the number of collected cells (11). Newer techniques such "brush biopsies" can assess cellular benignity or malignancy by computer-assisted analysis (5). Recently, we have begun to use exfoliative cytology as more sophisticated methods of DNA and molecular analyses, which leads to improve its quality and reliability as a cancer diagnostic technique (4).

This study aims to assess efficacy of a new brush biopsy technique, OralCDx ® (OralScan Laboratories Inc., Suffern, NY), as a new method for early diagnosis and monitoring a "potentially malignant disorder" such as oral leukoplakia.

Materials and Methods

We conducted a study (a controlled clinical trial), using samples obtained through OralCDx ® on 24 patients who visited the Master of Oral Medicine, Oral Surgery and Implantology of the University of Santiago de Compostela, referred by the SERGAS (Servizo Galego de Saúde - Galician Public Healthcare System), between February 2009 and May 2010 who showed clinical and histological lesions that were consistent with oral leukoplakia in different clinical forms.

-Selected lesions

Oral leukoplakia is a potentially malignant disorder with a prevalence of 0.2% to 3.6% of oral cavity white lesions, which amount to 24.8% of oral lesions (12). Warnakulasuriya et al. defined this lesion in May 2005, as a white plaque with an increasing questionable oral cancer risk after excluding other known diseases and disorders that do not increase the risk. Sometimes, red areas appear alongside the white ones; this is called erythroleukoplakia. Leukoplakia often presents a clear correlation with smoking habits, but there are some idiopathic cases (6). The annual average of malignant transformation is 1%. (12).

-Method

OralCDx ® (OralScan Laboratories Inc., Suffern, NY), is a brush biopsy method with computer assisted sample analysis. It obtains cells from the three cell layers of the epithelium of the oral mucosa for a correct analysis (13).

The Kit contains a brush cytology sampling tool, a pre-coded glass slide, two pre-coded forms, two sachets of polyethylene alcohol fixative, a container for the sample holder and an envelope to send the samples (9). For sampling, we followed the steps indicated by the

manufacturer: filling forms (a copy to be sent out and a copy for the dentist); brush sampling by performing 10 to 20 lateral or frontal rotations, in a representative area (never on an ulcer) until the area turns reddish or a light dotted hemorrhage; we then transferred the sample on to the pre-coded slide, placing the fixative to avoid contamination of the sample; the sample is then left to dry for 15 minutes and placed in the container and the envelope for shipment. In the laboratory the sample is stained with Papanicolaou tint (13); then it is scanned and analyzed microscopically using a computer with an image database containing different degrees of abnormal cell morphology (14). The program is capable of detecting two abnormal cells among thousands of normal cells (13). A cytopathologist reviews and interprets the data (14). The results are classified as atypical (cellular changes of uncertain diagnosis), positive for dysplasia or carcinoma, negative (normal cells) and inappropriate (incomplete transepithelial sample) (15). With all this data a report is issued and sent to the dentist.

The OralCDx® brush biopsy technique is a simple, minimally invasive, relatively inexpensive, painless and has shown greater psychological acceptance by patients (3,13). With it, we can obtain complete transepithelial samples to perform adequate analysis of the lesion (2,13). No special training is required for its use thus favoring its acceptance among professionals (5,16). Local anesthesia is rarely necessary except in cases of ulcerated lesions in which its use is indicated, since sampling of these areas often results in greater discomfort for the patient (13).

Besides the different variables appearing on the form (color, location, symptoms, etc.) the dentist responsible for the cytological samples subjectively assessed the keratinization degree of the lesions.

We decided to consider as low-keratinized lesions, regardless of the oral cavity area in which they were located, those lesions that had a similar color to that of healthy oral mucosa. Moderately keratinized lesions were those having a whitish appearance but that were located in areas of the oral cavity showing little or no keratinization (e.g. buccal mucosa) and highly keratinized lesions were those showing a high degree of keratinization and were located in keratinized areas (e.g. hard palate).

All patients had a sample taken with a surgical scalpel 3 weeks prior or after sampling with the OralCDx ® kit to compare our results.

-Inclusion-Exclusion criteria

All patients were informed about the procedure they were to undergo, they were asked to sign a consent form authorizing sampling. They also had to authorize the performance of a conventional biopsy using a surgical scalpel.

We excluded patients who did not sign the consent form for both samples; those who had undergone treatment before the lesion and those whose lesions had a different diagnosis from leukoplakia. All samples were taken by the same dentist and analyzed by the same pathologist.

The development of this study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine and Dentistry, University of Santiago de Compostela.

We used the computer program SPSS 15.0 for Windows (Inc., Chicago, USA) to analyze the different variables of our study, using contingency tables to calculate the Kappa index and assess the correlation between test results using OralCDx ® and conventional biopsy and the keratinization degree and cell representation. Calculations of sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were performed using STATA™ software 10.1 for Windows.

Results

Of the 24 patients included in the study, 12 (50%) were men and 12 (50%) women. We took a single sample from each patient. Local anesthesia was not required in any of the cases. Their age ranged between 40 and 82 years, with an average age of 62.38 + / - 12.14 years. 19 patients (79.16%) were initially diagnosed with oral leukoplakia and 5 with erythroleukoplakia (20.83%). The most frequent location of lesions in our study was the lateral border of tongue, appearing in 8 cases (33.3%), which was followed by buccal mucosa in 4 cases (16.7%). In our cases, 11 (45.8%) of the lesions showed a flat appearance and 13 (54.2%) were verrucose. 15 (62.5%) patients were smokers or had a history of smoking, while 9 of these (60%) drank alcohol regularly.

Concerning the degree of keratinization, we found 6 cases (25%) of highly keratinized lesions, 14 (58.3%) were moderately keratinized and 4 lesions (16.7%) were slightly keratinized. Table 1 shows all data concerning the characteristics of the lesions.

As regards to the OralCDx ® technique, in 16 (66.7%) of cases we obtained cells from all 3 layers of the epithelium (superficial, intermediate and basal), while in 4 (16.7%) cases we found intermediate and superficial cells and in 4 (16.7%) we only obtained superficial cells.

In the analyses reports we found that the tests were negative (no cellular alterations) in 15 cases (62.5%) and that there was atypia in the remaining 9 cases (37.5%). Local anesthesia during the sampling procedure was not necessary in any of the cases in our study.

The results of surgical scalpel biopsies were classified as negative (without epithelial alteration) in a total of 13 cases (54.2%); atypical (mild-moderate dysplasia) in 11 cases (45.8%).

By correlating these two variables, test results using OralCDx ® and conventional biopsies, and taking into account all the samples, we obtained values of 72.7% sensitivity and 92.3% specificity. PPV was 88.8% (95% CI 50.6-99.4%), while NPV was 80% (95% CI 51.3-

Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012 Jan 1;17 (1):e5-9.

94.6%). Upon calculating correlation between the results obtained with OralCDx ® and biopsies we obtained a Kappa value of 0.66, which showed good correlation.
Finally, we analyzed the keratinization degree in relation to the difficulty of obtaining a complete sample and we observed that in the total number of cases of low-keratinized lesions (4 samples) we obtained a complete sample; in 4 (28.5%) of the 14 cases with moderately keratinized lesions we only obtained superficial and intermediate cells; while in 4 of 6 (66.6%) cases of highly-keratinized lesions we only managed to obtain an incomplete sample. The Kappa value in this case was 0.33 thus we recorded a low correlation, however it was very close to the correct values (0.4).

Table 1. Clinical characteristics of lesions.

Diagnosis	
Leukoplakia	19 (79'16%)
Erythroleukoplakia	5 (20'83%)
Appearance	
Flat	11 (45'8%)
Verrucose	13 (54'2%)
Ulceration	
Yes	4 (16'6%)
No	20 (83'3%)
Location	
Buccal Mucosa	4 (16'7%)
Lateral of tongue	8 (33'3%)
Ventral area	3 (12'5%)
Back of Tongue	3 (12'5%)
Gums	2 (8'3%)
Retromolar trigone	2 (8'3%)
Labial and alveolar	1 (4'2%)
Hard palate	1 (4'2%)
Duration of lesion	
< 6 months	1 (4'2%)
6 months - 1 year	5 (20'8%)
> 1 year	16 (66'7%)
Unknown	2 (8'3%)
Size of lesión	
5-10 mm	8 (33'3%)
10-20 mm	8 (33'3%)
More than 20 mm	8 (33'3%)

Discussion

In our study we found that the lateral border of the tongue was the most frequent location of the lesions appearing in 8 cases (33.3%), followed by buccal mucosa in 4 cases (16.7%). Meanwhile other authors state that the most common location is the buccal mucosa with rates varying between 31 and 22%, followed by the lateral border of tongue (15-22%). (1,13,16). This difference may be due to the small size of our sample compared with that of other authors (1,13,16).
Of all our patients, 15 (62.5%) were smokers or had a history of smoking which indicates the relationship between the occurrence of these injuries and smoking.
In our study and in those by other authors we found that samples were taken mainly in predominantly white lesions with percentages ranging from 40-65% (1,13,16,17).
As regards to the cellularity obtained by sampling with the OralCDx ® kit; in 8 cases (33.3%) cells we did not obtain cells from the 3 layers of the epithelium; 4 of which (50%) were taken at the beginning of our study, which is normal due to our initial unfamiliarity with the technique. (13,15). The average of incorrect samples usually ranges between 2% and 6% (15). This relatively low percentage of incomplete samples was due to the rigid design of the brush for adequate sampling (13,18).
Upon evaluating the difficulty in obtaining complete samples in relation to the lesion's keratinization degree, we noted that in 4 (66.6%) of 6 highly-keratinized lesions we could not obtain cells from the 3 layers of the epithelium, while in 4 (16.7%) of 14 cases of moderately-keratinized lesions we failed to obtain a complete sample, recording a Kappa value of 0.33, which was very close to matching correct correlation values for this variable (0.4). Many authors have indicated that a high keratinization degree in some lesions can be contradictory to the use of this technique since it hinders us from securing sufficient cellularity to perform adequate analysis (8,11,13,15). We could then consider, in these cases, taking a sample using a scalpel which would allow for a correct analysis of these lesions.
Correlating the results of OralCDx ® and conventional biopsy we recorded a Kappa value of 0.66, which indicated a high concordance level. The sensitivity value for this test was 72.7% and 92.3% specificity. Both values are close to those found in other publications which range between 70-100% for sensitivity and between 90-100% specificity (11,13,15-17). We found one false positive (11.1%).
This relatively low sensitivity may be due to the fact that we found 3 (20%) false negatives. One of these cases showed a high degree of dysplasia. It is important to note that basal layer cell representation layer in this specific patient was insufficient. In fact, if we were to eliminate all 8 cases in which cell representation was incomplete we would obtain a sensitivity of 87.5% while the specificity would remain the same. PPV was 88.8% and NPV 80%, values that somewhat corroborate the reliability of our test. These values vary in other publications, ranging between 38-88% for PPV and 60-100% in the case of NPV (14).
In most studies, a biopsy was taken only in patients who showed atypical cytology results. This can cause errors

in the studies of these authors, in terms of sensitivity, specificity, PPV and NPV calculations (18). Authors such as Scheifele et al., indicate that they performed biopsies only in cases of atypia, with a delay of 75 to 292 days, which may cause major histopathologic changes in the lesion during that lapse of time. (15). In our study no more than 21 days passed between sampling with one technique or the other.

The main problem we found was that with the OralCDx ® kit we failed to establish diagnoses that allowed us to identify the lesion, given that it only allows us to perform an assessment of the cellular representation, thus it may be considered as a method to monitor lesions. Nowadays, to obtain definitive certainty of diagnosis it is still necessary to use a conventional scalpel biopsy (2).

Another problem we observed was scarceness of pathologists who are specialized in the analysis of these samples, as has been previously noted by other authors (13). Often, reference laboratories have a long delay in issuing results with deadlines ranging from 30 to 120 days.

Another problem noted by some authors is sampling with OralCDx ® in an inflammatory pathology such as lichen planus or pemphigus, since these conditions often result in the existence of a greater number of false positives, as a result of cell morphology which has been altered by inflammation. (8,13).

Multiple researches are underway to try to prove the future applications of this methodology in cytomorfometry, molecular analysis and DNA collection and analysis from liquid-based cytology. (3-5,8,11,15,19,20).

Our conclusion is that, although cytological sampling with OralCDx ® (OralScan Laboratories Inc., Suffern, NY), presents high sensitivity and specificity values that make it a good tool for monitoring oral leukoplakia, nowadays, the most reliable method to confirm the exact diagnosis of lesions and their histopathologic characteristics biopsy is still conventional biopsy by surgical scalpel.

References

References with links to Crossref - DOI

1. Christian DC. Computer-assisted analysis of oral brush biopsies at an oralcancer screening program. J Am Dent Assoc. 2002;133:357-62.
2. Fedele S. Diagnostic aids in the screening of oral cancer. Head Neck Oncol.2009;1:5.
3. Mehrotra R, Gupta A, Singh M, Ibrahim R. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. Mol Cancer. 2006;5:11.
4. Diniz-Freitas M, García-García A, Crespo-Abelleira A, Martins-Carneiro JL, Gándara-Rey JM. Applications of exfoliative cytology in the diagnosis of oralcancer.Med Oral. 2004;9:355-61.
5. Acha A, Ruesga MT, Rodríguez MJ, Martínez de Pancorbo MA, Aguirre JM. Applications of the oral scraped (exfoliative) cytology in oral cancer andprecancer. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2005;10:95-102.
6. Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. J Oral Pathol Med. 2007;36:575-80.
7. Warnakulasuriya S, Reibel J, Bouquot J, Dabelsteen E. Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement. J Oral Pathol Med. 2008;37:127-33.
8. Trullenque-Eriksson A, Muñoz-Corcuera M, Campo-Trapero J, Cano-Sánchez J, Bascones-Martínez A. Analysis of new diagnostic methods in suspicious lesions of the oral mucosa. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2009;14:E210-6.
9. Sciubba JJ. Oral cancer and its detection.History-taking and the diagnostic phase of management. J Am Dent Assoc. 2001 Nov;132 Suppl:12S-18S. Erratum in: J Am Dent Assoc 2002;133:422.
10. Sugerman PB, Savage NW. Exfoliative cytology in clinical oral pathology. Aust Dent J. 1996;41:71-4.
11. Mehrotra R, Hullmann M, Smeets R, Reichert TE, Driemel O. Oral cytology revisited. J Oral Pathol Med. 2009;38:161-6.
12. Cerero-Lapiedra R, Baladé-Martínez D, Moreno-López LA, Esparza-Gómez G, Bagán JV. Proliferative verrucous leukoplakia: a proposal for diagnostic criteria. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2010;15:e839-45.
13. Sciubba JJ. Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions.Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. U.S. Collaborative OralCDx Study Group. J Am Dent Assoc. 1999;130:1445-57.
14. Patton LL, Epstein JB, Kerr AR. Adjunctive techniques for oral cancer examination and lesion diagnosis: a systematic review of the literature. J Am Dent Assoc. 2008;139:896-905.
15. Scheifele C, Schmidt-Westhausen AM, Dietrich T, Reichart PA. The sensitivity and specificity of the OralCDx technique: evaluation of 103 cases. Oral Oncol.2004;40:824-8.
16. Poate TW, Buchanan JA, Hodgson TA, Speight PM, Barrett AW, Moles DR, et al. An audit of the efficacy of the oral brush biopsy technique in a specialist Oral Medicine unit.Oral Oncol. 2004;40:829-34.
17. Svirsky JA, Burns JC, Carpenter WM, Cohen DM, Bhattacharyya I, Fantasia JE, et al. Comparison of computer-assisted brush biopsy results with follow up scalpel biopsy and histology. Gen Dent. 2002;50:500-3.
18. Lingen MW, Kalmar JR, Karrison T, Speight PM. Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. Oral Oncol. 2008;44:10-22.
19. Brunotto M, Zárate AM, Cismondi A, Fernández Mdel C, Noher de Halac RI.Valuation of exfoliative cytology as prediction factor in oral mucosa lesions.Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2005;10 Suppl 2:E92-102.
20. Pérez-Sayánsm M, Somoza-Martín JM, Barros-Angueira F, Reboiras-López MD, Gándara-Vila P, Gándara Rey JM, et al. Exfoliative cytology fordiagnosing oral cancer. Biotech Histochem. 2010;85:177-87.