

DEPARTAMENT ESTOMATOLOGIA

LEUCOPLASIA VERRUGOSA PROLIFERATIVA : ESTUDIO
EN 32 CASOS

JUDITH MURILLO CORTÉS

UNIVERSITAT DE VALENCIA
Servei de Publicacions
2009

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 5 de desembre de 2008 davant un tribunal format per:

- D. Miguel Peñarrocha Diago
- D. Alejandro Ceballos Salobreña
- D. Juan Seoane Lesten
- D^a. Elena Sánchez Fernández
- D. Antonio Font Fons

Va ser dirigida per:

D. José Vicente Bagán Sebastián

D^a. Yolanda Jiménez Soriano

©Copyright: Servei de Publicacions
Judith Murillo Cortés

Depòsit legal:

I.S.B.N.:978-84-370-7445-0

D.L.:V-1336-2009

Edita: Universitat de València
Servei de Publicacions
C/ Artes Gráficas, 13 bajo
46010 València
Spain
Telèfon: 963864115



VNIVERSITAT  VALÈNCIA
Departament d'Estomatologia

LEUCOPLASIA VERRUGOSA PROLIFERATIVA: ESTUDIO EN 32 CASOS

TESIS DOCTORAL

Realizada por:

Judith Murillo Cortés

Dirigida por:

Prof. Dr. José Vicente Bagán Sebastián

Dra. Yolanda Jiménez Soriano

Valencia, 2008



UNIVERSITAT ID VALÈNCIA
Departament d'Estomatologia

José Vicente Bagán Sebastián, Catedrático de Medicina Bucal del Departamento de Estomatología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia,

y Yolanda Jiménez Soriano, Profesora Ayudante de Medicina Bucal del Departamento de Estomatología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia,

CERTIFICAN QUE:

Doña Judith Murillo Cortés ha realizado la tesis doctoral titulada: ” **Leucoplasia verrugosa proliferativa: estudio en 32 casos**”, bajo nuestra dirección y la informamos favorablemente para que pueda ser evaluada, leída y defendida ante el tribunal correspondiente de nuestra Universidad.

Lo que firmamos en Valencia a 5 de Mayo de 2008.

Fdo. José Vicente Bagán Sebastián

Fdo. Yolanda Jiménez Soriano

Agradecimientos

Al Profesor José Vicente Bagán por dirigir y ayudarme en la realización de este trabajo. Tengo la satisfacción no solo de pertenecer a su equipo de trabajo, sino de poder recibir sus consejos profesionales y humanos que me han servido tantas veces y que valoro por encima de todo.

A la Dra. Yolanda Jiménez por sus recomendaciones y por su gran calidad humana.

A mis compañeros de trabajo del Hospital General Universitario de Valencia, me han ayudado siempre que lo he necesitado.

A M^a Dolors, Manel y Marc, mi familia por su apoyo incondicional. Han estado siempre a mi lado desde la distancia sin mencionar nunca el tiempo que no les he dedicado.

INDICE

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.- Leucoplasia oral	<i>página 16</i>
1.1 Concepto	<i>página 16</i>
1.2 Epidemiología	<i>página 17</i>
1.3 Etiología	<i>página 18</i>
a- Tabaco	
b- Papilomavirus	
c- Hongos	
d- Productos químicos	
e- Factores culturales y dietéticos	
1.4 Cuadro clínico	<i>página 22</i>
a- Sintomatología	
b- Localización	
c- Tipo de lesiones	
1.5 Histología	<i>página 23</i>
1.6 Diagnóstico	<i>página 24</i>
a- Provisional	
b- Definitivo	
1.7 Diagnóstico diferencial	<i>página 26</i>
1.8 Estadiaje de la leucoplasia	<i>página 30</i>
1.9 Tratamiento	<i>página 32</i>
2.0 Pronóstico	<i>página 33</i>
2.- Leucoplasia verrugosa proliferativa	
2.1 Concepto	<i>página 34</i>
2.2 Epidemiología	<i>página 34</i>
2.3 Etiología	<i>página 35</i>
a- Tabaco	
b- Papilomavirus	
c- Hongos	
d- Oncogenes	
e- Factores de crecimiento	
2.4 Cuadro clínico	<i>página 38</i>
a- Sintomatología	
b- Localización	
c- Formas especiales	
2.5 Histología	<i>página 40</i>
2.6 Diagnóstico	<i>página 41</i>
2.7 Diagnóstico diferencial	<i>página 42</i>
a- Hiperplasia verrugosa	
b- Carcinoma verrugoso	
c- Papilomatosis oral florida	
2.8 Tratamiento	<i>página 46</i>
a- Cirugía	
b- Láser CO2	
c- Terapia fotodinámica	
d- Vitaminas y análogos	
e- Otros	
2.9 Pronóstico	<i>página 49</i>

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	<i>página 53</i>
MATERIAL Y MÉTODOS	<i>página 55</i>
1- Pacientes seleccionados para el estudio	<i>página 57</i>
2- Material utilizado para el estudio	<i>página 58</i>
2.1 Material para estudio y recogida de muestras	
3- Método	<i>página 60</i>
4- Tratamiento estadístico	<i>página 68</i>
RESULTADOS	<i>página 75</i>
ANÁLISIS GENERALES	
1- Datos generales	<i>página 77</i>
a- Edad	
b- Sexo	
c- Hábitos: consumo tabaco	
d- Infecciones virus hepatitis	
2- Seguimiento	<i>página 82</i>
3- Estudio de la cavidad oral	<i>página 83</i>
a- Anamnesis	
b- Localización de LVP	
c- Tipo de lesiones	
d- Histología	
e- Lesiones asociadas de liquen plano oral	
f- Asociación de la LVP con Virus Papiloma Humano y Epstein-Barr	
f.1. Asociación de la LVP con el Virus Papiloma Humano	
f.2 Asociación de la LVP con el Virus de Epstein-Barr	
g- Evolución	
g.1. Carcinoma oral de células escamosas	
Número de carcinomas orales de células escamosas	
Tiempo entre carcinoma orales de células escamosas	
Localización	
Tipo de lesiones	
Tamaño de la lesión	
Estadio	
g.2. Recidiva y tipo	
4- Tratamiento	<i>página 113</i>
a. Tratamiento de la leucoplasia	
b. Tratamiento del carcinoma	
RESULTADOS ANALÍTICOS ENTRE DIFERENTES VARIABLES	<i>página 117</i>
Relación entre número, tipo clínico y localización del carcinoma	
DISCUSIÓN	<i>página 127</i>
CONCLUSIONES	<i>página 141</i>
BIBLIOGRAFÍA	<i>página 145</i>

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1- LEUCOPLASIA ORAL

- 1.1- Concepto
- 1.2- Epidemiología
- 1.3- Etiología:
 - a- Tabaco
 - b- Papilomavirus
 - c- Hongos
- 1.4- Cuadro clínico
 - a- Sintomatología
 - b- Localización
 - c- Tipo de lesiones
- 1.5- Histología
- 1.6- Diagnóstico :
 - a- Provisional (Clínico)
 - b- Definitivo (Histológico)
- 1.7- Diagnóstico diferencial
- 1.8- Estadiaje de la leucoplasia
- 1.9- Tratamiento
- 2.0- Pronóstico

2- LEUCOPLASIA VERRUGOSA PROLIFERATIVA

- 2.1- Concepto
- 2.2- Epidemiología
- 2.3- Etiología:
 - a- Tabaco
 - b- Papilomavirus
 - c- Hongos
 - d- Oncogenes
 - e- Factores de crecimiento
- 2.4- Cuadro clínico
 - a- Sintomatología
 - b- Localización
 - c - Formas especiales
- 2.5- Histología
- 2.6- Diagnóstico
- 2.7- Diagnóstico diferencial
 - a- Hiperplasia verrugosa
 - b- Carcinoma verrugoso
 - c- Papilomatosis oral florida
- 2.8- Tratamiento:
 - a- Cirugía
 - b- Láser CO2
 - c- Terapia fotodinámica
 - d- Vitaminas y análogos
- 2.9- Pronóstico

1.- LEUCOPLASIA ORAL

1.1 CONCEPTO

La OMS define la lesión precáncerosa como un tejido de morfología alterada, más propenso a cáncerizarse que el tejido equivalente de apariencia normal. Considera lesiones precáncerosas la leucoplasia y la eritroplasia (1). Define como estado precánceroso a un tejido generalizado que se asocia con un riesgo significativamente mayor de cáncer. Scully (2) modifica las entidades de cada grupo y clasifica como lesión precáncerosa la leucoplasia, la eritroplasia, la queilitis actínica, el lupus eritematoso y el liquen plano.

En 1887 Schwimmer (3), describe por primera vez la leucoplasia oral como una placa blanca localizada en las mucosas. Durante mucho tiempo esta lesión se asocia con el término histológico de displasia epitelial, hasta que en 1978 la WHO Collaborating Center for Oral Precancerous Lesions (1) define la leucoplasia oral (LO) como toda placa blanca que no se desprende con el raspado y no se puede confundir clínica ni patológicamente con ninguna enfermedad conocida.

Posteriormente, Axel y col (4), en 1984, añaden a esta definición aspectos relacionados con su etiología. Se considera LO toda placa blanca que no se desprende con el raspado, que no se puede confundir clínica ni patológicamente con ninguna otra enfermedad y que no se asocia a ningún agente químico ni físico, a excepción del tabaco.

Esta importante restricción etiopatogénica, que excluye las lesiones blancas producidas por agentes mecánicos como los dientes y las prótesis, no es compartida por otros autores (5).

En 1994 (6) un grupo de expertos en lesiones precancerosas orales reunidos en Uppsala (Suecia) definieron la leucoplasia oral como una lesión blanca de la mucosa oral que no puede ser caracterizada como ninguna otra lesión definida, añadiendo el concepto de que algunas leucoplasias se transformarán en cáncer.

1.2.- EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia de la leucoplasia oral alrededor del mundo oscila entre el 0'2% y el 24'8%, dependiendo de los criterios clínicos utilizados, la localización geográfica del grupo estudiado, la localización intraoral y los hábitos culturales (7). Se han efectuado estudios con grandes masas de población en diferentes áreas geográficas. Gangadarhan y Paymaster (8) tras examinar 203.249 personas en la India, encontraron una prevalencia del 0'7%. Knapp (9) hizo lo mismo en 181.338 individuos en Estados Unidos, con un porcentaje del 0'2%. Bouquot y Gorlin (10), posteriormente obtuvieron una prevalencia del 2'9% en 23.616 en un estudio realizado en Estados Unidos. En Europa, Axell (11) tras estudiar 20.333 suecos observó un porcentaje del 3'6% de leucoplasias.

Las discrepancias entre los diferentes autores responde, como indica Axell (11), a lo que cada autor entiende por leucoplasia; así unos distinguen entre leucoplasias idiopáticas y las asociadas al tabaco y otros incluyen las debidas a agentes físicos (traumáticos) y químicos.

La edad media de los pacientes con leucoplasia oral es de unos 60 años (10), Axel (11) describe cifras similares en sus estudios, hallando una prevalencia máxima entre los 55 y 64 años. Bagán y col (12) en estudios realizados en España obtienen que el 72'71% de los pacientes respondían a edades comprendidas entre los 40 y 70 años, obteniendo en la década de los 50-60 años la mayor prevalencia (40%).

Con relación al sexo, Bouquot y col (10) encontraron casi el doble de leucoplasias orales en el sexo masculino que en el femenino. Axell (11) halló mayor desproporción de sexos, con predominio del masculino. Bagán y col (12) hallaron un porcentaje del 60% de varones y un 40 % de mujeres.

1.3.- ETIOLOGÍA

Se han establecido muchas clasificaciones en relación a la etiopatogenia, Van der Waal y col (13) establecieron una nueva clasificación: las leucoplasias asociadas al tabaco y las idiopáticas (sin causa conocida). Esta clasificación separa del concepto de leucoplasia a aquellas lesiones blancas con causa conocida, a excepción del tabaco, como las producidas por causas traumáticas o químicas. Hay autores (5) que no están de acuerdo con esta clasificación porque consideran que no se ajusta a la realidad.

A. TABACO

La prevalencia de las leucoplasias orales asociadas al tabaco es cuatro veces superior a la de las idiopáticas (11). Bagán y col (5) encontraron en uno de sus estudios que el 40'9% de leucoplasias se asociaban al tabaco, el 10'9% eran leucoplasias idiopáticas y el 48'18% restante eran leucoplasias de causa irritativa dentaria o protésica.

Los mecanismos de acción que influyen en el desarrollo de leucoplasias pueden ser tres: físico, por el calor que se desprende, químico, por los productos derivados de la combustión del tabaco y mecánico por el apoyo del cigarrillo, el puro o la pipa casi siempre en la misma posición en el labio.

B. PAPILOMAVIRUS

En algunos pacientes no se encuentra un factor etiológico determinado y denominamos a este tipo de lesiones leucoplasias idiopáticas. Hay autores que consideran que algunos virus juegan un papel en estas leucoplasias. González Moles y col (14) determinaron que el papilomavirus humano (VPH) podría tener relación con el origen de la leucoplasia oral, especialmente con las leucoplasias displásicas, observado mayor presencia de los papilomavirus humanos 16/18.

A pesar de que la evidencia de la implicación de los virus en el proceso de carcinogenesis está aumentando, especialmente el del virus papilomavirus humano, el papel de estos virus no está bien definido. Basándose en los hallazgos obtenidos en diferentes estudios, de una prevalencia similar de infección por VPH en mucosa normal, en leucoplasias o en carcinomas, se puede pensar que el virus se comporte como un pasajero en el epitelio humano. Hay autores que opinan que esto probablemente refleja el largo periodo de tiempo latente que el virus necesita para desarrollar una neoplasia. La presencia intermedia del virus es todo lo que necesita para la iniciación del daño cromosómico, posiblemente a través de la acción de las proteínas E6 y E7 del VPH-16 que puede inactivar el regulador del ciclo celular p53 y las proteínas del retinoblastoma (15).

C. HONGOS

En un 13 a un 39% de las leucoplasias orales se ha demostrado la presencia de *Candida* en su epitelio, no obstante este dato parece más probable que responda a una infección sobreañadida (16). Se ha encontrado mayor sobreinfección en las leucoplasias moteadas o nodulares, en las que histológicamente encontramos más displasia epitelial, lo que conlleva mayor tendencia a la malignización. De entre las candidas, la *Candida*

Albicans constituye la mayoría, aunque podemos encontrar también *Candida tropicalis* o *Candida pintolopesii* (17).

D. PRODUCTOS QUÍMICOS

Se ha descrito una posible asociación entre el uso crónico de productos *Viadent* y la aparición de leucoplasia, especialmente en la mucosa vestibular del maxilar superior.

Viadent corresponde a una marca de productos dentífricos antiplaca y enjuagues orales con actividad antibacteriana, antifúngica y antiinflamatoria, que utilizan el extracto de la sanguinaria, una mezcla de alcaloides derivados de la raíz de la planta, *Sanguinaria canadensis*. La sanguinaria y sus metabolitos parecen alterar el metabolismo hepático, se elimina lentamente y se retiene en el tracto gastrointestinal, hígado, pulmón, riñón y corazón, y se une a las proteínas plasmáticas. También ha demostrado la habilidad de unirse al DNA natural del huésped por encima de una gran variedad de factores ambientales.

Damm y col (18) demuestran en su estudio que el 98'6% de las biopsias realizadas en pacientes con leucoplasias y consumidores de productos *Viadent*, mostraban displasias, incluso en dos de ellos existía una displasia moderada, de los cuales aproximadamente el 40% habían utilizado el producto más de 4 años. Concluyeron que el uso de este producto podía asociarse al aumento en la prevalencia de leucoplasia en el vestíbulo del maxilar superior.

E. FACTORES CULTURALES Y DIETÉTICOS

La variabilidad geográfica y regional en la prevalencia del cáncer oral y precáncer indica que el estilo de vida socio-cultural de la población juega un papel importante en su etiología y patogenia.

En los países en desarrollo está muy extendido el hábito de mascar tabaco, especialmente entre la gente de mayor edad. El tabaco mascado puede causar estrés oxidativo, es decir la presencia de oxígeno reactivo en los tejidos. Este oxígeno reactivo está implicado en la iniciación de las reacciones de radicales libres celulares, causando daño en las proteínas y el DNA (19).

El papel de la dieta en la incidencia de precáncer y cáncer ha sido también estudiado, hallando que algunos micronutrientes como las vitaminas A, C, E y los carotenoides pueden disminuir la incidencia de cáncer epitelial (20). Este efecto de protección se atribuye a sus actividades antioxidantes, al reducir las reacciones de radicales libres que pueden ocasionar mutaciones en el DNA, cambios en los lípidos de las membranas celulares y cambios en las actividades enzimáticas. También pueden modular el metabolismo de los carcinógenos, inhibir la proliferación celular, la expresión de oncogenes, la función inmune y la formación endógena de carcinógenos (21).

Parece existir una interrelación entre los factores culturales y dietéticos con el cáncer y precáncer oral. La asociación entre los niveles plasmáticos de algunos micronutrientes y los hábitos culturales como fumar ha sido demostrada por muchos autores, encontrando niveles plasmáticos más bajos de vitaminas y nutrientes en fumadores, en pacientes que no habían disminuido la ingesta (22).

1.4.- CLÍNICA

A.SINTOMATOLOGÍA

La sintomatología de la leucoplasia oral suele ser anodina. El paciente puede acudir a la consulta sin referir sintomatología asociada, en un 82% de ocasiones, o bien asociando molestias inespecíficas como escozor, sensación de tirantez o de rugosidad en la zona en un 18% (17). Bagán y col (12) comprobaron que únicamente en un 25% de casos, los pacientes consultan dentro del primer año de descubrirse la lesión.

El principal motivo de consulta es en un 60% de ocasiones, un hallazgo casual, cuando la lesión lleva tiempo de evolución, y en un 40% de ocasiones el paciente acude refiriendo molestias inespecíficas.

B.LOCALIZACIÓN

La localización de la leucoplasia oral varía según el estudio realizado, así Bouquot y col (10) encontraron mayor frecuencia en el borde del bermellón del labio (30'6%), la mucosa yugal (23'6%), las encías del área mandibular (19'5%), lengua (9'1%) y suelo boca (6'2%). Axell (11) en su estudio encuentra mayor presencia de leucoplasias en comisuras labiales (85%), en mucosas yugales (64'3%) y mucosa labial (3'7%). Bagán y col (12) coinciden con Axell encontrando mayor prevalencia en mucosas yugales (50%) y la mucosa gingival después (18%). En un estudio realizado posteriormente por estos autores con mayor número de casos la mucosa yugal fue también la más afectada (45%), las encías mostraron un aumento en la frecuencia de presentación (33'3%) y también la lengua (20'72%) (5).

D.TIPO DE LESIONES

Se han establecido muchas clasificaciones del tipo clínico de la leucoplasia oral. Van der Waal (13) en 1986 finalmente las divide en homogéneas y no homogéneas. Las homogéneas se describen como lesiones simplemente blancas, uniformes en su forma, bien delimitadas, no duras ni infiltradas. Las no homogéneas son lesiones blancas y rojas, de aspecto nodular o verrugoso, tienen peor delimitación, tampoco son duras, ni infiltradas. Las no homogéneas a su vez se subdividen en nodulares, eritroleucoplásicas y exofíticas.

Las leucoplasias homogéneas son mucho más frecuentes que las no homogéneas, autores como Axell (11) atribuyen una proporción de 11/1. Bagán y col (5) muestran en su estudio sobre 110 pacientes con leucoplasia oral, que 99 presentaban leucoplasias homogéneas, 10 moteadas y uno verrugosa.

La clasificación clínica nos ayuda a orientar el diagnóstico con la simple inspección, pero no excluye el posterior estudio histopatológico que nos descartará o no el diagnóstico de malignidad.

1.5.- HISTOLOGÍA

Según las características morfológicas podemos dividir las leucoplasias en dos tipos, las leucoplasias benignas o sin displasia y las leucoplasias con displasia. Las leucoplasias sin displasia son más frecuentes, representan el 80-85% y se caracterizan por la asociación de hiperqueratosis (orto o paraqueratosis) y acantosis epitelial. Las displásicas constituyen el 20-15% y presentan anomalías atípicas en el epitelio. Dependiendo del mayor o menor número de anomalías en los diferentes estratos del epitelio clasificamos estas displasias en leves, moderadas y graves (17).

La presencia o no de displasias en el epitelio nos marcará la actitud a tener cuando planifiquemos el tratamiento.

1.6.- DIAGNÓSTICO

La leucoplasia oral, como su definición nos indica, es un término clínico que nos da por tanto un *diagnóstico provisional* de la lesión. No debemos conformarnos con esta única impresión, en ocasiones existen lesiones que aparentemente parecen benignas pero tienen un estudio anatomopatológico de carcinoma in situ o de carcinoma invasor.

El *diagnóstico definitivo* se establecerá tras la biopsia, con el resultado histológico de la lesión, que podrá ser de hiperqueratosis, en el caso de leucoplasia sin displasia o de displasia de diferentes grados, en las leucoplasias displásicas.

Muchos investigadores han descrito una relación notable entre las características nucleares y el pronóstico en pacientes con neoplasias malignas, como el contenido del ADN nuclear (23). Existen entidades patológicas que no pueden realmente diagnosticarse como benignas o malignas bajo el microscopio o presentan dificultad en catalogar el grado de displasia. Los patólogos conociendo el problema han desarrollado técnicas para el diagnóstico de lesiones malignas y premalignas como el *análisis citométrico del DNA nuclear (FCA)* o la *tinción de proteínas asociadas a regiones nucleares organizadas (AgNOR)*.

El *análisis citométrico del DNA nuclear (FCA)* utiliza una monosuspensión de miles de células marcadas con fluorescente pasadas previamente por un rayo de láser de argon para registrar la intensidad del contenido de DNA de cada núcleo. Un histograma de DNA, generado por un software, permite la detección de la población de células con DNA aneuploide y con aumento de la proliferación celular. Es una técnica

precisa y objetiva pero requiere un equipamiento especial y un personal especialmente entrenado (24). Saku y Sato (25) investigaron el valor predictivo de los histogramas en lesiones precáncerosas orales, encontrando que las lesiones que desarrollaban carcinomas mostraban un diseño particular de DNA en relación al grado de displasia. Las leucoplasias con DNA aneuploide podían presentar mayor riesgo de desarrollar carcinoma y el FCA es un método útil para el screening del potencial maligno de la leucoplasia.

Las *regiones nucleares organizadas* (AgNOR), son nudos de DNA del nucleolo que transcriben RNA, y están implicados en los ribosomas y en la síntesis de proteínas, por tanto reflejan actividad celular. En primates y humanos, estas *regiones* están localizadas en cinco pares de cromosomas acrocéntricos. Al utilizar una técnica de marcado que se une a ciertas proteínas acídicas no histónicas asociadas a estas regiones, se han detectado algunas anormalidades genéticas. Es una técnica que consume menos tiempo y dinero que puede desempeñarse fácilmente en un laboratorio, pero es una herramienta visual subjetiva en la gradación de la displasia oral.

Al realizar estudios estadísticos para determinar si estas técnicas ayudan al diagnóstico microscópico de las lesiones premalignas orales, ambas técnicas muestran una correlación positiva pero no son una ayuda diagnóstica en la gradación de las displasias mucosas (24).

Se han intentado identificar varios marcadores fiables capaces de indicar las leucoplasias orales que presentar un riesgo elevado de desarrollar un carcinoma. Las citoqueratinas constituyen el mayor componente del citoesqueleto de los epitelios, proporcionando soporte mecánico para la célula y su núcleo. En lesiones premalignas y malignas hay queratinas que se expresan de forma alterada, indicando una diferenciación anormal. La utilización de sus anticuerpos específicos marcados

inmunohistoquímicamente puede ser una herramienta útil para definir el grado de diferenciación en displasias orales y carcinomas (26).

1.7.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La terminología utilizada para designar las lesiones blancas de la boca no es muy precisa. Si consideramos el término de queratosis en general, a toda lesión que histológicamente tenga queratina en su superficie epitelial, podemos diferenciar varias lesiones como son el liquen plano, el lupus eritematoso, el nevus blanco esponjoso y la leucoplasia verrugosa proliferativa.

El liquen plano es una enfermedad mucocutánea de etiología incierta, que actualmente se considera como un trastorno inmunitario, que presenta unas características histopatológicas únicas. Tiene una prevalencia del 0'9 al 1'2%, predominando en un rango de 30-70 años de edad. Afecta los dos sexos aunque de un 60-65% de pacientes son mujeres. Encontramos lesiones en la piel y apéndices, mucosa oral y otras membranas mucosas. El liquen plano oral está presente en un 70% de pacientes dermatológicos de liquen y en un 44% de pacientes diagnosticados de liquen plano oral encontramos afectación cutánea. Las lesiones orales, invariablemente son bilaterales y afectan la mucosa yugal posterior principalmente, o la lengua, aunque cualquier zona puede afectarse. Son lesiones más pleomórficas que las cutáneas, presentando diferentes apariencias. La forma *reticular* es la más común, afecta a la mucosa yugal mayormente, adquiriendo un diseño en forma de líneas blanquecinas finas con un patrón en forma de cordones, las denominadas “estrías de Wickham” o un patrón en forma anular. La forma *papular* responde a pápulas blanquecinas pequeñas de 0'5 a 1 mm de diámetro. La forma *en placas* responde a placas blancas que se asemejan mucho a una leucoplasia pero donde se puede apreciar un margen reticular

alrededor. La forma *atrófica* se presenta como una lesión roja difusa o una eritroplasia. La *erosiva* puede confundirse con un pénfigo, un penfigoide o un lupus eritematoso, pudiendo ser extensas, irregulares, afectando principalmente la mucosa lingual o bucal, asociándose a menudo con lesiones blancas. En la encía estas erosiones producen una gingivitis descamativa. La forma *bullosa* es rara. De todas estas presentaciones, las formas reticular y atrófica son las más comunes. La historia natural del liquen cutáneo es la remisión espontánea en 10-15 años, pero en el liquen oral presentan un curso más crónico (27).

Los hallazgos microscópicos se caracterizan por paraqueratosis, la infiltración linfocítica densa en banda en el estroma superficial y la membrana basal y especialmente por la liquefacción de las células epiteliales de la basal y la ofuscación de la interfase epitelio-estroma. Estas características conducen a la llamada configuración en “sawtooth” (28). Existe una controversia sobre el potencial maligno del liquen, hay autores que consideran que el liquen plano deja al epitelio más expuesto a factores externos irritativos y carcinogénicos, especialmente en las formas atrófico-erosivas. Según otros autores los casos aportados en la literatura no son verdaderos líquenes, sino displasias liquenoides (29).

El lupus eritematoso es una enfermedad inflamatoria crónica del tejido conectivo que evoluciona a brotes. La etiopatogenia es desconocida, parece ser que intervienen diversos factores de tipo genético, neuroendocrinos, agentes externos o fármacos que alteran el sistema inmunitario, ocasionando una vasculitis y una actividad inflamatoria tisular con degeneración fibrinoide y esclerosis cutánea. Mediante la técnica de inmunofluorescencia directa se ha observado que la enfermedad se produce por alteraciones inmunitarias, mediadas por inmunocomplejos y autoanticuerpos que se unen al complemento y originan las alteraciones en los tejidos (30). Cuando existe una

afectación exclusiva de la piel o las mucosas recibe el nombre de lupus eritematoso discoide (LED), es la forma localizada, si afecta además otros órganos con alteraciones hematológicas y serológicas se denomina lupus eritematoso sistémico (LES), es la forma generalizada y multicéntrica. Las manifestaciones de la LED afectan mayormente a la mucosa yugal y los labios. En mucosa yugal presentan una zona deprimida, atrófica o ulcerada, eritematosa y rodeada de una zona de hiperqueratosis que se extiende a la periferia en forma de pequeñas líneas o estrías blancas. Su forma, tamaño y localización varían con el tiempo. El labio lúpico se caracteriza por lesiones en forma de placa eritematosa localizada con el signo de la invasión cutánea o del borramiento labial, signo que la diferencia de otras lesiones labiales (31). Las manifestaciones orales del LES, son de tipo no discoide, en forma de áreas hiperémicas o purpúricas, o bien como úlceras superficiales dolorosas de fondo amarillento, localizadas habitualmente en paladar y a veces en mucosa yugal o encía. Es característica la falta de queratinización de estas lesiones, a diferencia de las lesiones discoides (30). En el diagnóstico histopatológico del LED debemos encontrar edema de lámina propia, infiltrado inflamatorio profundo en parches, gruesos depósitos yuxtaepiteliales PAS +, atrofia de la red de procesos, degeneración hidrópica del estrato basal e hiperqueratosis con tapones queratósicos. Es imprescindible el hallazgo de una marcada positividad de la Ig G en la lámina basal a la inmunofluorescencia (32). Para el diagnóstico de LES se han establecido una serie de criterios diagnósticos, de lo cuales el enfermo debe presentar cuatro criterios o más. Los criterios son el eritema facial en alas de mariposa, lesiones discoides en piel, fotosensibilidad, úlceras orales o nasofaríngeas, artritis no erosiva, serositis (pleuritis o pericarditis), nefropatía, afectación neuropsiquiátrica, alteraciones hematológicas (anemia, leucopenia,

trombocitopenia), alteraciones inmunológicas (células LE, Ac antiDNA, antiSm) y ANA (Ac antinucleares +) (30).

El nevus blanco esponjoso es una genodermatosis bastante rara, descrita inicialmente por Hyde en 1909 y posteriormente Cannon en 1935. Se transmite de forma autosómica dominante pero con una penetrancia irregular de hasta el 85%, hecho que explica los casos descritos sin agregación familiar. Está causada por la mutación de los genes de las queratinas k4 y k13 (33,34). Se ha descrito la presencia de papilomavirus humano 16 en algunas de estas lesiones pero se cree que simplemente existe una relación casual (35).

Afecta a hombres y mujeres en la misma proporción. Puede manifestarse de forma congénita pero habitualmente se inicia en la primera década de la vida, alcanzando su máximo en la adolescencia (36).

Se puede localizar en mucosa oral, mucosa esofágica, faríngea, nasal, vaginal, anal y rectal. En boca se presenta como placas blancas, sobreelevadas, de aspecto esponjoso, blandas a la palpación, localizándose en mucosas yugales, labios, reborde alveolar y suelo de boca de forma bilateral (36).

Su diagnóstico se sospecha por la clínica, la existencia de familiares afectados y confirmado por el estudio histológico. Histológicamente observamos acantosis epitelial, vacuolización del estrato espinoso, edema intercelular y presencia de múltiples células disqueratóticas con o sin núcleos picnóticos.

A partir de la adolescencia, el nevus blanco esponjoso, suele permanecer estable. Los tratamientos utilizados, como retinoides y tetraciclinas, no muestran resultados totalmente definitivos.

La leucoplasia verrugosa proliferativa (LVP) es una forma especialmente agresiva de leucoplasia oral, se inicia como una simple hiperqueratosis pero tiende a

extenderse y hacerse multifocal. Es de crecimiento lento, persistente e irreversible y con el tiempo las lesiones se convierten en lesiones exofíticas, verrugosas y resistentes a todas las formas de tratamiento. Su diagnóstico se realiza de forma retrospectiva, en base a la clínica y evolución de las lesiones, que se inician como leucoplasias no displásicas, evolucionan hacia un aspecto exofítico y afectando a múltiples zonas de la boca (7).

1.8.- ESTADIAJE DE LA LEUCOPLASIA

Con el propósito de poder relacionar de una manera uniforme diversos aspectos de la leucoplasia se ha establecido un sistema de clasificación y estadiaje, teniendo en cuenta el lugar, el subtipo clínico y los aspectos histológicos. Este sistema de clasificación no es válido en lo que se refiere al manejo del paciente (37).

1.- L = extensión de la lesión

Lo= no evidencia de lesión

L1= lesión \leq 2 cm

L2= lesión 2-4 cm

L3= lesión \geq 4 cm

2.- S = lugar de la lesión

S1= todos los lugares de la boca, a excepción del suelo de la boca y lengua

S2= suelo de boca y/o lengua

Sx= no especificado

3.- C = aspecto clínico

C1= homogéneo

C2= no homogéneo

Cx= no especificado

4.- P = características histopatológicas de la biopsia, si existe

P1= no displasia

P2= displasia leve

P3= displasia moderada

P4= displasia severa

Px= no especificado

(este aspecto únicamente se establece en leucoplasias que se han examinado histopatológicamente)

Estadio 1: cualquier L, S1, C1, P1 o P2

Estadio 2: cualquier L, S1, C2, P1 o P2

cualquier L, S2, C1, P1 o P2

Estadio 3: cualquier L, S2, C2, P1 o P2

Estadio 4: cualquier L, cualquier S, cualquier C, P3 o P4

Si existe una duda en relación a la categoría correcta de L, S, C o P para asignar un caso, debe elegirse la categoría más baja (menos avanzada). Esto también se reflejará en el estadio.

En el caso de múltiples leucoplasias simultáneas, la lesión con el L más alto y/o la categoría S más alta debe clasificarse y la multiplicidad de leucoplasias debe indicarse entre paréntesis. Ej: L2(m)

En el caso de diferentes tipos clínicos de leucoplasia, se utiliza el tipo más alto.

En el caso de múltiples biopsias de una leucoplasia simple o biopsias tomadas de múltiples leucoplasias, debe utilizarse la marca patológicamente más alta.

1.9.- TRATAMIENTO

Ante una leucoplasia oral, primero debemos aconsejar la retirada de los posibles factores etiopatogénicos. Indicaremos la necesidad de no fumar ni beber bebidas alcohólicas. También buscaremos factores irritativos de tipo protésico o dentario para eliminarlos.

Volveremos a revisar al paciente a las 2-3 semanas y si no desaparece o disminuye de forma importante la lesión debemos practicar una biopsia, excisional (extirpando toda la lesión) si es pequeña, o incisional si la lesión es grande, especialmente de las zonas más sospechosas, las moteadas atrófico-erosivas. Tras la biopsia, si nos encontramos con una leucoplasia sin displasia aconsejaremos revisiones, insistiendo en la retirada de factores etiopatogénicos, su extirpación mediante cirugía convencional, láser CO2 (vaporización), criocirugía o terapia fotodinámica.

Si nos encontramos con una leucoplasia con displasia, extirparemos toda la lesión con cirugía convencional y así se analizará en su totalidad (12).

La cirugía con láser de CO2 es una herramienta efectiva y con baja morbilidad en el tratamiento de la leucoplasia oral y de carcinomas orales superficiales, sin embargo debido al riesgo de reaparición de la enfermedad, el seguimiento de los pacientes es extremadamente importante especialmente durante los dos primeros años posteriores al tratamiento (38).

Otra herramienta terapéutica es la terapia fotodinámica. Se basa en la administración de un fármaco fotosensibilizante que preferiblemente se acumulará en el tejido tumoral. Se continúa con la exposición local en el tumor de una luz no térmica, normalmente un láser, utilizando un fotosensibilizador. La excitación de este fotosensibilizador con la presencia de oxígeno permite la formación de oxígeno simple, una molécula altamente reactiva capaz de producir un efecto citotóxico local. El hecho

de que la luz roja solo penetre unos pocos milímetros en el tejido, conlleva que únicamente pueda ser tratada una profundidad pequeña (39).

Algunos autores recomiendan el tratamiento médico con ácido retinoico a altas dosis. Los retinoides, especialmente el ácido 13-*cis*-retinoico y el etretinato, han demostrado que pueden disminuir el número de tumores secundarios primarios en pacientes con carcinomas de cabeza y cuello. Se sabe que son esenciales para el mantenimiento de la diferenciación epitelial normal de los queratinocitos y en la supresión de la diferenciación escamosa, previniendo el desarrollo de queratinocitos premalignos y malignos (40). La administración de 13-*cis*-retinoico a dosis de 1-2 mg/Kg/día durante 3 meses ha demostrado una importante regresión de las leucoplasias pero también una alta tasa de recidivas y una elevada toxicidad. La pauta de 1'5 mg/Kg/día durante 3 meses y posteriormente 0'5 mg/Kg/día durante 9 meses presenta mejores resultados.

1.10.- PRONÓSTICO

La leucoplasia oral se considera una lesión precancerosa, ya sea por la gran cantidad de carcinomas de células escamosas que tienen asociadas lesiones leucoplásicas, o por haber observado que hay lesiones leucoplásicas que se han transformado con el paso de los años en carcinomas.

Pero no todas las leucoplasias poseen el mismo riesgo de malignización. Existen unos factores de riesgo que pueden condicionar más el desarrollo neoplásico, como son la edad superior a los 50 años, el hábito de fumar, ser consumidor de alcohol habitual, localización en el suelo de boca y bordes laterales de la lengua y las lesiones de tipo no homogéneo (12). Son este tipo de lesiones las que someteremos a mayor vigilancia y ante cualquier cambio sospechoso en su aspecto o en la clínica realizaremos un nuevo estudio histológico.

2.- LEUCOPLASIA VERRUGOSA PROLIFERATIVA

2.1.- CONCEPTO

En 1985, Hansen y colaboradores (7) describieron por primera vez la leucoplasia verrugosa proliferativa (LVP) como una enfermedad de origen desconocido que presenta una gran tendencia a desarrollar áreas de carcinoma. La LVP es una forma especialmente agresiva de leucoplasia oral que se inicia como una simple hiperqueratosis pero tiende a extenderse y hacerse multifocal. Es de crecimiento lento, persistente e irreversible y con el tiempo las lesiones se convierten en lesiones exofíticas, verrugosas y resistentes a todas las formas de tratamiento. La recurrencia es la norma (41,42).

La definición de esta particular forma de leucoplasia ha sido, con posterioridad, ampliamente apoyada por muchos autores, incluso se ha descrito un caso con implicación cutánea (43).

2.2.- EPIDEMIOLOGÍA

Hansen (7) en 1985, en el primer artículo que define la leucoplasia verrugosa proliferativa (LVP) describe un rango de edad comprendido entre 36 y 90 años, con una edad media de 70 años. Silverman y Gorsky (41) en 1997, observaron en su estudio sobre 54 pacientes con LVP, una edad media de 62 años. Bagán y col (44) en 2003, en su estudio con 30 pacientes describen una edad promedio de 70 años, similar al artículo original.

La LVP es más frecuente en mujeres (7), así coinciden Silverman y Gorsky (41) señalando una relación mujeres/hombres de 4 a 1, así como también otros autores (44)

que encuentran en sus estudios una distribución de un 80% de mujeres frente a un 20% de hombres.

2.3.- ETIOLOGÍA

La etiología de LVP es desconocida, el factor desencadenante inicial de la aparición de esas placas predominantemente blancas no se conoce, ni tampoco por qué en un determinado momento desarrollan un carcinoma. Por eso se cree que es una enfermedad de origen multifactorial (7).

Al estudiar factores de riesgo como el tabaco y la infección por *Candida* no se ha encontrado ninguna influencia evidente en la aparición de la LVP o en su progresión (41).

A. TABACO

En relación a la leucoplasia verrugosa proliferativa, Zakrewska y col (42) en 1996 encuentran que 7 de los 10 casos que publican eran fumadores. Sin embargo, posteriormente Silverman y col (41) en 1997, en su estudio sobre 54 casos nos dicen que un 69% de sus pacientes eran no fumadores. Bagán y col (44) en su estudio sobre 30 pacientes encuentran una prevalencia de fumadores menor del 23%.

B. PAPILOMAVIRUS

En la LVP se especula que el papilomavirus humano podría influir en su transformación maligna. Palesky y col (45) en el trabajo realizado en 1995, muestran que 8 de las 9 biopsias de LVP (89%) estudiadas mediante PCR e hibridación in situ,

eran positivas para el VPH y 7 de ellas para el tipo 16. El mecanismo por el cual la infección por VPH contribuye en el desarrollo de carcinoma oral de células escamosas no se conoce todavía, pero recientemente se sabe que el VPH puede jugar un papel importante en la acumulación de mutaciones cromosómicas. Las proteínas E6 y E7 del VPH 16 se ha demostrado que se unen e inactivan dos reguladores negativos importantes del ciclo celular, la p53 y la proteína del retinoblastoma (46). La inactivación de la p53 por la proteína VPH E6 podría perder su efecto protector y conducir a una inestabilidad cromosómica.

Sin embargo, Campisi y col (47), en un estudio reciente demuestran que la infección por el VPH no parece estar más asociado a la leucoplasia verrugosa proliferativa que a las lesiones de leucoplasia oral convencional, señalando que el riesgo de infección por este virus está presente en las lesiones leucoplásicas orales en general.

Bagán y col (48) de la misma forma, al estudiar pacientes de LVP con diferentes estadios, no encuentran una asociación entre la LVP y la infección por VPH.

C. VIRUS EPSTEIN-BARR

El virus de Epstein-Barr se ha relacionado con una gran variedad de neoplasias, demostrándose su implicación como agente etiológico en el carcinoma nasofaríngeo, además de asociarse a la leucoplasia oral vellosa y a enfermedades linfoproliferativas como el carcinoma linfoepitelial y el linfoma de células B (49). El virus tras la infección inicial, persiste en las células epiteliales orales y se replica en ellas (50).

Muchos autores han estudiado la importancia de la infección por Epstein-Barr en el carcinoma oral de células escamosas (51,52) pero los resultados fueron controvertidos.

Autores tales como Anwar y col (53), Goldenberg y col (54) y Yang y col (55) no demostraron la implicación del virus con el COCE (carcinoma oral células escamosas). Higa y col (51) hallaron en Japón un gran número de infecciones en sus pacientes con COCE, en especial del tipo B, sin embargo Shimakage y col (50) no pudieron encontrar ninguna relación.

D. HONGOS

La infección por *Candida Albicans* podría relacionarse con la carcinogénesis y en la cronicidad de las lesiones de la LVP, debido a la producción de nitrosaminas (agente carcinogénico) (56). En el estudio original de Hansen y col (7) 12 de los 19 pacientes estudiados presentaban infección por *Candida* y en el estudio de Silverman y col (41) en 19 de los 38 pacientes.

E. ONCOGENES

En 1997, Gopalakrishnan y col (57) estudiaron la frecuencia de expresión de la proteína p53, las mutaciones del gen p53 y la infección por VPH en la LVP y el carcinoma oral de células escamosas, intentando establecer una relación entre estas alteraciones genéticas y la progresión de la displasia oral al carcinoma oral. Se encontraron mutaciones del gen p53 en las biopsias de carcinoma oral, pero los resultados no demuestran el papel de la mutación del gen p53 en la progresión de la LVP al carcinoma oral, ni evidencia de que la infección por HPV 16/18 juegue un papel en la patogénesis de la LVP por inactivación de la p53.

F. FACTORES DE CRECIMIENTO

El factor de crecimiento tumoral alfa (TGF-alfa) es un miembro de la familia de factores de crecimiento, que incluye también el EGF (factor de crecimiento epidérmico). La unión a su receptor activa una quinasa tirosina-específica que resulta en una señal de transducción y la subsiguiente división celular. El TGF- alfa es un potente mitógeno y se sabe que juega un papel importante en varias neoplasias, incluyendo el carcinoma de células escamosas.

Kannan y col (58) estudiaron la expresión del factor de crecimiento alfa en la LVP, en el carcinoma de células escamosas y en la mucosa normal. Encontraron un aumento de la inmunoreactividad del TGF-alfa en la LVP, sin tener relación con la duración de las lesiones, incluso un poco mayor a la inmunoreactividad encontrada en el carcinoma pero la diferencia no fue estadísticamente significativa.

2.4.- CLÍNICA

A. SINTOMATOLOGÍA

Al igual que en la leucoplasia oral, la sintomatología de la LVP suele ser anodina. El paciente, especialmente en los estadios iniciales, acude a la consulta sin referir ningún síntoma o describe molestias inespecíficas como escozor o sensación de tirantez, pero puede llegar a referir dolor en estadios más avanzados, cuando se han desarrollado zonas de carcinoma oral de células escamosas.

Los pacientes suelen acudir a la consulta describiendo una historia de lesiones leucoplásicas, de varios años de evolución, que van apareciendo o extendiéndose por diferentes regiones de la mucosa oral, sin responder a los tratamientos habituales.

B. LOCALIZACIÓN

La LVP puede manifestarse en muchos lugares de la mucosa oral, la mucosa yugal suele ser el lugar de inicio, seguido del paladar duro y blando, la mucosa alveolar, la lengua, suelo de boca, encía y labios (7). Silverman y col (41) en su estudio sobre 54 pacientes encontraron que la mucosa yugal en mujeres era la localización más frecuente (63%), y en hombres la lengua (82%). Zakrzewska y col (42) encuentran que predominantemente se afecta la mucosa alveolar mandibular o de la encía y la mucosa yugal, seguido de la lengua y el labio. Bagán y col (44), presentan mayor localización en encía, seguido de la mucosa yugal y la lengua.

D. TIPO DE LESIONES

La LVP se caracteriza por empezar como una simple placa hiperqueratósica que con el tiempo se extiende localmente, se hace multifocal, exofítica y de aspecto verrugosa, mostrando áreas de cambios eritematosos con áreas blanquecinas con la apariencia de leucoplasia verrugosa o nodular, clínica e microscópicamente idénticas a un carcinoma verrugoso o carcinoma de células escamosas (7,42).

D. FORMAS ESPECIALES

La LVP puede afectar cualquier área de la mucosa oral, pero recientemente Fettig y col (59) han descrito en 10 pacientes una forma especial localizada en encía, denominándola LVP de la encía y la consideran un subtipo de la LVP.

La LVP de la encía comparte muchos aspectos histológicos y clínicos con la leucoplasia verrugosa proliferativa de otros sitios. Se inicia como una placa blanca solitaria, asintomática, de apariencia benigna, de aspecto plano, papilar o verrugoso. Tiene un crecimiento lento hasta desarrollar un carcinoma verrugoso o de células escamosas. Las lesiones suelen infradiagnosticarse, no sospechándose su seriedad hasta que la lesión se hace recurrente o empieza a mostrar características histológicas atípicas.

Los autores que describen esta entidad (59), refieren que la LVP descrita desde 1985 por Hansen y col (7) se manifiesta clínicamente en muchos sitios de la mucosa oral y está fuertemente asociada al virus papilomavirus (45,46), en especial al subtipo 16. En cambio la LVP de la encía se inicia como una lesión solitaria en la encía y se desarrolla en ella sin afectar otras localizaciones de la mucosa. Los estudios realizados no demuestran tampoco asociación con el VPH.

2.5.- HISTOLOGÍA

La LVP se caracteriza por la variabilidad y la evolución de la histología de estas lesiones, desde una hiperqueratosis, pasando por una displasia con diferentes grados de severidad hasta un carcinoma verrugoso o un carcinoma de células escamosas convencional o papilar (17,41). Por esta razón Murrah y Batsakis (60), sugirieron que la

biopsia debía tomarse de los márgenes de la lesión, zona donde las diferencias se ven más claramente y así poder diferenciar mejor un proceso benigno de uno maligno, aconsejando tomar biopsias de 2 ó 3 zonas.

2.6.- DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la LVP puede ser difícil porque al inicio tiene un carácter inocuo, pero con el tiempo empiezan a aparecer progresivamente lesiones grandes verrugosas que al final ocupan prácticamente toda la mucosa (61,62).

El diagnóstico se realiza de forma retrospectiva, en base a la clínica y evolución de las lesiones de apariencia multifocal y exofítica. El reconocimiento en estadio temprano es prácticamente imposible, ya que las lesiones empiezan por una queratosis no displásica que no podemos distinguir de las reversibles o de las tratables, evolucionando con el tiempo (a veces periodos de 20 años o más) (7).

Kahn y col (61) sugirieron que el análisis de flujo citométrico podía ser una herramienta de ayuda en el reconocimiento temprano de la LVP. El análisis detecta líneas de células con DNA aneuploide en la LVP, tanto en los especímenes iniciales como en las líneas celulares ya establecidas. Esto podría ser útil en la identificación de lesiones de LVP durante los inicios, permitiendo a los médicos ser más agresivos de forma temprana y afectando favorablemente su pronóstico.

Klanrit y col (63) estudiaron la evolución de 6 pacientes de LVP con carcinoma, realizándoles un estudio histológico y un análisis del DNA de todas las lesiones. Observaron que las dos técnicas tenían potencial para predecir la transformación de lesiones benignas a carcinomas. En 4 casos de detectó algún grado

de displasia previo a la transformación maligna y en otros 4 se detectaron ploidias anormales en localizaciones que luego se transformaron en carcinoma.

2.7.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Las lesiones blancas verrugosas pueden responder a varios diagnósticos como la hiperplasia verrugosa, el carcinoma verrugoso, la papilomatosis oral florida y la leucoplasia verrugosa proliferativa (64).

A. HIPERPLASIA VERRUGOSA

La LVP y la hiperplasia verrugosa son dos lesiones clínicopatológicas irreversibles de la mucosa oral y del tracto respiratorio superior, interrelacionadas y con una considerable propensión a progresar hacia un carcinoma verrugoso o de células escamosas convencional.

La LVP es una enfermedad de la cavidad oral en la que la hiperplasia verrugosa puede ser una parte del espectro de desarrollo, sin embargo, los términos no son clínica ni patológicamente intercambiables. La LVP no tiene una lesión histopatológica única definida. El diagnóstico de hiperplasia verrugosa, debe hacerse histológicamente (65).

La hiperplasia verrugosa es una enfermedad de la mucosa de cabeza y cuello, aunque histológicamente puede ser un componente de la LVP, no es exclusiva de esta enfermedad ni de la mucosa oral, pudiendo aparecer también en el tracto sinusal o en la laringe (60). En la laringe puede o no asociarse a una queratosis previa o adyacente. En

algunos casos existe una evidencia histológica fuerte con el papilomavirus, con papel de cofactor en algunas de las lesiones (66). En la cavidad oral, tanto la hiperplasia verrugosa como el carcinoma verrugoso tienen a menudo de un moderado a un denso infiltrado inflamatorio crónico. En la laringe o en el seno este tipo de inflamación se manifiesta infrecuentemente. En todos los sitios implicados existe una hiperplasia epitelial adyacente.

Shear y Pindborg (65) describen la hiperplasia verrugosa de la mucosa oral, en sus pacientes, como una lesión no reversible, con alta progresión o asociación hacia carcinoma. Admiten que las lesiones de hiperplasia verrugosa y carcinoma verrugoso son muy parecidas, pudiendo ser indistinguibles histológicamente. Batsakis y colaboradores (61) separan estas lesiones basándose en el diseño de crecimiento de la proliferación epitelial, exofítico (en la hiperplasia) y endofítico (en el carcinoma).

Existen autores (64) que consideran la hiperplasia verrugosa como una variante morfológica de carcinoma verrugoso. Otros (67) creen que la hiperplasia es un precursor irreversible del carcinoma, con muchas de las consecuencias biológicas del carcinoma verrugoso. Por esta razón debe tratarse de la misma forma.

Nosotros consideramos que los dos términos forman parte de la misma entidad, que estaríamos ante dos etapas diferentes de desarrollo de la enfermedad, la hiperplasia verrugosa correspondería a estadios iniciales y la LVP al estadio final.

B. CARCINOMA VERRUGOSO DE ACKERMAN

En 1948 Ackerman (68) describió por primera vez el carcinoma verrugoso como una variante del carcinoma oral de células escamosas (COCE).

El carcinoma verrugoso representa menos del 5% de los cánceres orales, es una variante poco común con unas características de comportamiento únicas que le separan de las formas normales de COCE convencional.

Clínicamente aparece como una lesión blanquecina, verrugosa, de crecimiento voluminoso en forma de coliflor con una base amplia. Su color blanco probablemente sea una reflexión de su marcada queratinización, vista histológicamente.

Es más típico de personas de poca higiene oral, con prótesis dentales mal ajustadas o en aquellas que mascan tabaco. Etiológicamente el factor de riesgo más importante para la aparición de un carcinoma verrugoso parece ser la infección por papilomavirus (69).

Se considera de bajo grado de malignidad. Es un tumor muy bien diferenciado que mantiene la membrana basal intacta, siendo el diagnóstico de malignidad difícil, por esta razón la biopsia debe ser profunda. Muestra invasión local pero no metástasis a distancia, únicamente una proporción pequeña de carcinomas verrugosos (20%), poseen un componente adicional de COCE convencional que les confiere potencial metastático. El pronóstico con márgenes quirúrgicos libres es excelente.

El diagnóstico diferencial se establece con todas las lesiones verrugosas: hiperplasia pseudoepiteliomatosa, lesiones papilomatosas benignas, hiperplasia verrugosa, verruga vulgar (70).

D. PAPILOMATOSIS ORAL FLORIDA

En 1960 Rock y Fisher (71) describen por primera vez unas lesiones papilomatosas de cavidad oral y laringe, que pueden ser múltiples o confluentes, tienden a recurrir tras la extirpación simple incluso puede reaparecer como un carcinoma. La histología de estas lesiones a menudo revela focos de atipia y frecuentes mitosis, pero si bien estos cambios pueden erróneamente interpretados como indicativos de malignidad, los criterios absolutos de malignidad como la invasión de la lámina propia, las mitosis atípicas y la pérdida de polaridad están ausentes. Difiere también de la leucoplasia por la presencia de una configuración papilar pronunciada y la ausencia de hiperqueratosis.

Gaillard y col (72), al igual que Rock y col (71), recomiendan la extirpación quirúrgica como terapéutica más adecuada para la papilomatosis oral florida. Dado que estas lesiones carecen de las manifestaciones abiertas de carcinoma, la extirpación local parece apropiada y su estudio anatomopatológico necesario por su posible naturaleza premaligna.

Collangettes y col (73) describen las ventajas del láser CO₂ en el tratamiento de estas lesiones, como la precisión de la intervención, la mínima hemorragia y las pocas reacciones inflamatorias posquirúrgicas. Su asociación con interferón – alfa incrementa el efecto. El interferón aumenta las defensas inmunológicas al elevar las células natural killer y la fagocitosis por macrófagos, mientras que los efectos indeseables y tóxicos a bajas dosis se manejan bien.

2.8- TRATAMIENTO

El tratamiento de la LVP no debe ser nunca expectante. Se deben eliminar factores como el tabaco y el alcohol, incluso tratar con antimicóticos aquellas lesiones sobreinfectadas por *Candida* (56). El uso de vitamina A, análogos y nutrientes antioxidantes (vitamina C, E, betacarotenos) no parecen tener efecto beneficioso (74).

Ante este tipo de lesiones, que suelen ser grandes y extensas, debemos realizar un estudio anatomopatológico. Dependiendo de la presencia o ausencia de displasia epitelial la actitud debe ser diferente.

Si no se observan signos displásicos y las lesiones son muy amplias o están situadas en lugares críticos de la anatomía oral pueden ser vaporizadas mediante láser de CO₂, terapia fotodinámica o crioterapia (42).

En lesiones con displasia debemos eliminar quirúrgicamente la lesión para analizarla posteriormente.

A. CIRUGÍA

La LVP es una entidad con una alta tendencia a desarrollar carcinoma oral de células escamosas, con una frecuencia del 60 al 100% (7, 44) por esta razón muchos autores (41, 42, 75) recomiendan el tratamiento quirúrgico con su completa extirpación y su estudio anatomopatológico posterior.

Aunque el tratamiento quirúrgico presenta alta recurrencia, las lesiones leucoplásicas de la LVP deben eliminarse tantas veces como sea necesario evitando la tendencia que tienen a desarrollar áreas de carcinoma. Fetti y col (59) defienden el tratamiento agresivo de estas lesiones, sugiriendo incluso resecciones en bloque.

B. LÁSER CO2

Otro procedimiento empleado para el tratamiento de las leucoplasias es la utilización del láser (76). El láser CO2 ha sido ampliamente utilizado y estudiado en el tratamiento de la leucoplasia oral. Tiene como ventajas el corte de tejidos sin hemorragia, capacidad de vaporizar o cortar, esterilización de la zona donde incide el haz, inflamación perilesional mínima, no precisa sutura, tiempo de intervención reducido comparando con la cirugía convencional, postoperatorio con escasas molestias y especialmente permite en una sola sesión eliminar áreas extensas de lesiones. Entre sus inconvenientes destaca que es necesario que el campo esté seco para que actúe el láser, no coagula vasos grandes y no se debe tocar el tejido óseo (56).

C. TERAPIA FOTODINÁMICA

La terapia fotodinámica es un método simple y efectivo en el manejo de las lesiones premalignas, produce una necrosis local de los tejidos con luz después de haberles administrado un agente fotosensibilizante, obteniendo una excelente cicatrización. En cánceres invasivos los resultados no son tan satisfactorios, ya que el efecto es bastante superficial (39, 42).

D. VITAMINAS Y ANÁLOGOS

Otros métodos descritos para el tratamiento de la leucoplasia son la utilización del selenio, la bleomicina, el beta-interferón y los retinoides, pero no han demostrado ser muy efectivos (77).

La quimioterapia puede proveer un enfoque adicional en el manejo de la leucoplasia oral. Sus ventajas son la fácil aplicación que no requiere un centro médico, el uso tópico ofrece una disminución de la toxicidad sistémica, y representa un gasto relativamente bajo si comparamos con la intervención quirúrgica. En la cavidad oral puede considerarse útil en lesiones amplias donde el tratamiento quirúrgico requiere reconstrucción con colgajos y anestesia general (78).

E. OTROS: ANTINEOPLÁSICOS

Recientemente Femiano y col (79) han publicado un estudio comparando los resultados terapéuticos de un grupo de 25 pacientes con LVP y virus papiloma humano, tratados con cirugía solamente, con otro grupo de 25 pacientes tratados con cirugía y methisoprinol, un agente sintético con propiedades inmunomoduladoras y algo de actividad antiviral contra en HPV.

Tras 18 meses de seguimiento los resultados fueron mejores en el segundo grupo, en el conjunto de pacientes tratados únicamente con cirugía aparecieron 18 recurrencias, mientras que en el grupo que recibió methisoprinol presentó 4 recurrencias.

A pesar de que los resultados del estudio parecen significar un avance significativo en el manejo de la LVP, los efectos del methisoprinol solo, en ausencia de cirugía son desconocidos, entre otras cosas porque no es ético no ofrecer tratamiento quirúrgico a estos pacientes dada la agresividad de la enfermedad.

2.9.- PRONÓSTICO

La agresividad de la LVP se debe no sólo a su alta tendencia a recurrir tras el tratamiento, sino también al aumento de la incidencia de cáncer (66).

Silverman y Gorsky (41) tras 7 años de seguimiento encontraron que un 70'3% de sus pacientes habían desarrollado un carcinoma de células escamosas en el lugar de la LVP.

Bagán y col (44) encontraron una proporción similar, un 63'3% de carcinoma de células escamosas y un 26'7% de carcinoma verrugoso tras 4'7 años de seguimiento.

Silverman y Gorsky (41) también sugirieron que los pacientes con LVP a menudo desarrollan cáncer de encía. Bagán y col (44) ratifican esto mostrando en su estudio que un 73'7% de pacientes con LVP desarrollan cáncer de encía. Estos datos probablemente apoyan la entidad de LVP de la encía sugerida por Fettig y col (59).

En un estudio reciente Bagán y col (80), muestran la alta proporción de cancerización de campo que existe en los pacientes con LVP. El estudio se efectuó en 19 pacientes con LVP que habían desarrollado por lo menos un cáncer, encontrando que 10 de ellos desarrollaron más de un carcinoma, incluso un paciente presentó más de cinco tumores. Estos resultados nos manifiestan que más del 50% de los casos de LVP que desarrollan un carcinoma oral de células escamosas, con posterioridad desarrollarán tumores segundos primarios en diferentes zonas de la cavidad oral. Este dato apoya la hipótesis de un posible agente etiológico viral, como el HPV, especialmente por el corto espacio de tiempo entre la aparición de los diferentes tumores en el mismo paciente.

Otro punto a tener en cuenta es la baja frecuencia de carcinomas orales de células escamosas en pacientes con LVP, desarrollados en localizaciones típicas del

carcinoma oral convencional, como el suelo de la boca y la lengua, a pesar de presentar LVP en estas zonas (80).

Según Hansen (7) el índice de mortalidad es muy alto en pacientes con LVP, sin embargo Bagán y col (80) sugieren que los carcinomas orales de células escamosas desarrollados presentan menos agresividad. En su estudio de los 7 casos en los que aparecieron 3 tumores o más en el mismo enfermo, se observó que únicamente falleció un paciente por causas relacionadas con la enfermedad. El seguimiento de los pacientes tuvo una media de 68.40 meses y de los 10 pacientes que desarrollaron más de un tumor el estadiaje del TNM no fue mayor de 2 ni el tamaño de los tumores mayores a 2.5 cm.

Los estudios de seguimiento de la LVP no son tan largos como en el caso de la leucoplasia, sin embargo todos coinciden en destacar que los pacientes no fumadores, las formas más verrugosas y las eritroplásicas tienen un elevado riesgo de transformación maligna (41).

Es importante seguir un seguimiento cuidadoso de estos pacientes, la LVP constituye una lesión de muy mal pronóstico al poseer un comportamiento biológico muy agresivo, con alta tendencia a la malignización (81).

JUSTIFICACIÓN

Y

OBJETIVOS

La leucoplasia verrugosa proliferativa presenta unas características clínicas particulares que la definen como una entidad propia diferente del resto de leucoplasias. La edad media de presentación es más elevada que en la leucoplasia oral, la distribución por sexos es diferente así como la localización de las lesiones y los posibles agentes etiológicos. Los pacientes de LVP describen una historia de lesiones leucoplásicas de varios años de evolución, que van extendiéndose por diferentes regiones de la cavidad oral sin responder a los tratamientos habituales. El aspecto clínico de las lesiones va evolucionando desde simples placas hiperqueratósicas a lesiones más verrugosas.

Se considera una forma especialmente agresiva de leucoplasia oral, tanto por su alta tendencia a recurrir tras el tratamiento como por la alta incidencia en desarrollar carcinomas. Los diferentes autores (41,44) describen que un 63% de los pacientes desarrollaran un carcinoma oral de células escamosas y un 24% un carcinoma verrugoso.

Una característica de los pacientes de LVP es la baja frecuencia de carcinomas orales de células escamosas (COCE) desarrollados en localizaciones típicas del COCE convencional. Silverman y Gorsky (41) y Bagán y col (44) en sus estudios muestran la alta proporción de cáncer de encía y la baja frecuencia en las localizaciones típicas del carcinoma oral convencional como el suelo de la boca y la lengua, a pesar de presentar lesiones de LVP en estas zonas (80).

Bagán y col (80) muestran la alta proporción de cancerización de campo que existe en los pacientes de LVP. Sus resultados manifiestan que en un 50% de los casos de LVP que de desarrollan un COCE, posteriormente desarrollarán tumores segundos primarios en diferentes zonas de la cavidad oral. Esto apoya la hipótesis de un posible agente

etilógico viral, especialmente por el corto espacio de tiempo entre la aparición de los tumores en el mismo paciente.

Objetivos:

1º- Analizar las características clínicas de un grupo de 32 pacientes de LVP

2º- Examinar la tendencia a recaer tras el tratamiento y la tendencia a desarrollar cáncer que presentan nuestros 32 pacientes de LVP.

3º- Estudiar las características clínicas del cáncer en aquellos pacientes que desarrollaron carcinomas.

4º- Detectar y tipificar virus en aquellos pacientes que desarrollan cáncer.

MATERIAL Y MÉTODOS

1- PACIENTES SELECCIONADOS PARA EL ESTUDIO

El grupo de estudio constaba de un total de 32 pacientes, todos ellos de la comunidad de Valencia, 25 mujeres y 7 hombres en edades comprendidas entre los 46 y 96 años de edad, con una edad media de 73'03 años y una desviación estándar de 12'62, del Servicio de Estomatología del Hospital General Universitario de Valencia, diagnosticados de leucoplasia verrugosa proliferativa.

Los criterios de inclusión utilizados para pertenecer a este grupo siguieron los criterios inicialmente descritos por Hansen y col (7):

- pacientes que presentaban una larga historia (años) de lesiones clínicas de leucoplasia, de lento crecimiento tanto en tamaño como en extensión, persistentes, difusas o multifocales que se iniciaron como lesiones de aspecto blanquecino y queratósico y que han progresado a lesiones verrugosas y exofíticas.

- pacientes con hallazgos histológicos variables que comprenden desde una hiperqueratosis, a una displasia con diferentes grados de severidad a una carcinoma verrugoso o de células escamosas.

A todos los pacientes se les realizó una primera visita en la que se efectuó una historia clínica detallada, una exploración clínica y a continuación como mínimo una biopsia para posterior estudio histológico.

A un subgrupo de 4 pacientes, de los 32 pacientes del estudio, se les realizó además un enjuague oral con suero fisiológico para la detección del virus papiloma humano.

Para estudiar la asociación de la LVP con el virus de Epstein-Barr, realizamos el análisis de PCR en los nidos celulares de 3 subgrupos de pacientes. El subgrupo 1 lo componían 10 pacientes de LVP (que formaban parte de los 32 pacientes de nuestro estudio), 6 de los cuales desarrollaron un COCE y 4 que no presentaron signos de carcinoma.

El subgrupo 2 estaba formado por 5 pacientes diagnosticados de COCE sin ningún antecedentes de LVP.

El subgrupo 3 lo constituían 5 pacientes control con mucosa oral normal, sin lesiones de LVP ni otro tipo de lesiones, que fueron remitidos al Servicio de Estomatología de HGUV para la exodoncia de los terceros molares incluidos.

2- MATERIAL UTILIZADO PARA EL ESTUDIO

2.1- MATERIAL PARA EL ESTUDIO Y RECOGIDA DE MUESTRAS

El *espejo odontológico* del número 5 nos ayudó en el diagnóstico y en la inspección intraoral.

Los *guantes de vinilo* se utilizaban en la exploración clínica o durante la técnica anestésica local y los *de látex* para la realización de la biopsia.

Se emplearon diferentes separadores para mantener separados los tejidos o los colgajos evitando su traumatización. Los más empleados fueron los de *Langenbeck*, *Minnesota* o *Farabeuf*, dependiendo de la zona en la que se trabajaba.

La anestesia local se administraba mediante una *jeringa* de anestesia esterilizable que disponía de un dispositivo de aspiración. Las *agujas* eran desechables de un solo uso. El *carpule* contenía el anestésico, Mepivacaína al 3% o Articaína al 4% con vasoconstrictor (Epinefrina).

El paciente se cubrió con un *pañó quirúrgico estéril* y se le cubrió la cabeza con un gorro estéril o desechable.

Las incisiones se realizaron con *hojas de bisturí* desechables del número 11 ó 15, sujetas en un *mango de bisturí* del número 3.

Para la sujeción de los tejidos utilizamos *pinzas de disección* y para pinzar pequeños vasos o retirar fragmentos de tejido blando, las *pinzas hemostáticas mosquito*.

En la sección o disección de tejidos blandos se emplearon *tijeras de punta roma*.

La retirada de sangre de la cavidad oral durante las biopsias se facilitó con un *sistema de aspiración continua*. Los mangos del aspirador desechables utilizados fueron las *sondas de Yankauer*.

En ocasiones se precisó el control de la hemostasia con *electrobisturí* o con la colocación de *celulosa oxidada regenerada* en el lecho quirúrgico hemorrágico.

La sutura de la herida quirúrgica (zona de la biopsia) se efectuó con un *portaagujas* y el *hilo de sutura* fue seda de 2 ó 3/0 con aguja triangular. Cuando la biopsia se había tomado de una zona donde la posterior retirada de la sutura iba a ser muy molesta para el paciente se utilizaba material reabsorbible (ácido poliglicólico) que por tanto no precisaba ser retirado.

La muestra obtenida durante la biopsia se conservó en un *recipiente* etiquetado. Este recipiente contenía formol al 10% en las muestras que precisaban el estudio histológico. El recipiente no contenía ningún material si la muestras precisaba mantenerse en seco para su posterior ultracongelación y estudio biomolecular.

La recogida de saliva (obtenida mediante un enjuague realizado con 150 ml de suero estéril) se realizó en un *recipiente vacío* correctamente etiquetado.



Figura 1: Material para la toma de biopsia



Figura 2: recipientes para recogida de material de biopsia en formol y en fresco

3- MÉTODO

Se estableció un protocolo de estudio donde se recogía la edad del paciente, sexo, consumo o no de tabaco, cantidad de tabaco consumido, el tiempo (en meses) de seguimiento, se preguntaba sobre la existencia o no de dolor o de molestias asociadas a las lesiones. Se anotó también la localización de las lesiones de leucoplasia verrugosa proliferativa y tipo de lesiones, el número de biopsias efectuadas, su resultado histológico y su tratamiento. Se señaló si existía evolución hacia carcinoma verrugoso o a carcinoma oral de células escamosas (COCE), el número de COCES desarrollados, el tiempo (en meses) entre ellos, su localización, tipo clínico, tamaño, estadio clínico y tratamiento, la existencia o no de recidiva y tipo de recidiva. Se preguntó sobre antecedentes de virus hepatitis B, C y de liquen plano oral.

Los datos del protocolo que correspondían a variables cualitativas se fueron codificando, asignándole valor 1 cuando el paciente respondía NO y valor 2 cuando respondía SI, así en relación al tabaco, el no fumar se codificaba como 1 y el fumar como 2, el fumar menos de 10 cigarrillos/día como 1, de 10 a 20 como 2 y más de 20 como 3. En cuanto al sexo al varón le correspondía el valor 1 y a la mujer el 2.

Al preguntar sobre la sintomatología acompañante, la no existencia de dolor se codificó como 1 y su presencia como 2. Sobre las molestias asociadas, nada se indicaba como 1, a las molestias inespecíficas como 2 y al dolor como 3.

La localización de las lesiones de la leucoplasia verrugosa proliferativa se dividió en encía superior, inferior, paladar duro, blando, mucosa yugal derecha, mucosa yugal izquierda, lengua dorsal, ventral, labio superior, inferior, suelo de boca y pilar amigdalino. Codificando como 1 cuando no existía lesión y 2 cuando existía en esa localización. El tipo de lesiones se dividió en leucoplasia homogénea múltiple,

leucoplasia verrugosa, eritroleucoplasia o manchas melánicas, codificando como 1 cuando no existía lesiones y 2 cuando sí.

Se interrogó sobre el número de biopsias realizadas y la histología se dividió como hiperqueratosis, displasia, carcinoma verrugoso o carcinoma oral de células escamosas.

Se anotó si existía evolución a carcinoma verrugoso o a carcinoma oral de células escamosas, el número de carcinomas desarrollados, el tiempo (en meses) entre ellos y su localización. La localización a su vez, se dividió en encía superior, inferior, paladar duro, blando, mucosa yugal derecha, izquierda, borde lateral derecho de lengua, borde izquierdo, labio superior, inferior, suelo de boca y pilar amigdalino. El tipo de lesión se clasificó en ulcera, tumoración o lesión mixta. El tamaño de los carcinomas se dividió según los cm como lesiones menores de 1 cm, entre 1 y 2 cm, entre 2 y 3 y entre 3 y 4 cm. En todos ellos el valor 1 correspondía al NO y el 2 al SI.

Si el paciente desarrolló más de un cáncer cada vez que presentaba uno se preguntaba el tiempo de evolución (en meses) y cuando existía más de un cáncer el tiempo (en meses) entre la aparición del nuevo carcinoma respecto al último carcinoma ya conocido. Además utilizamos el mismo protocolo en cuanto a la localización, el tipo de clínico de lesión y el tamaño en cada carcinoma .

Registramos el estadio en el que se encontraba el carcinoma, según la clasificación tumoral de la UICC (Union Internationale Contre le Cáncer) (82) que agrupa los tumores en diferentes grupos para poder conocer el pronóstico de la enfermedad.

Estadio O	Estadio I	Estadio II	Estadio III	Estadio IV
TIS	T1	T2	T3	T4
N0	N0	N0	T1,T2,T3	Cualquier T
M0	M0	M0	N0	N0,N1
			N1	N2,N3
			M0	M0
				M1

T: tamaño del tumor

TIS: carcinoma in situ

T1: tumor hasta 2 cm en su diámetro mayor

T2: tumor entre 2 y 4 cm en su diámetro mayor

T3: tumor mayor de 4 cm en su diámetro mayor

N: ganglios linfáticos regionales

N0: sin metástasis linfáticas regionales

N1: metástasis en un único ganglio ipsilateral ≤ 3 cm en su diámetro mayor

N2: metástasis en un único ganglio ipsilateral >3 cm pero <6 cm en su diámetro mayor o múltiples metástasis ipsilaterales ninguna de ellas >6 cm

N2a: metástasis en un ganglio ipsilateral >3 pero <6 cm

N2b: metástasis en múltiples ganglios ipsilaterales, ninguno >6 cm en su diámetro mayor

N2c: metástasis ganglionares bilaterales o contralaterales, ninguna de ellas mayor de 6 cm en su diámetro mayor

N3: metástasis ganglionar >6 cm en su diámetro mayor

M: metástasis a distancia

M0: sin metástasis a distancia

M1: metástasis a distancia

Clasificamos el tipo de tratamiento administrado en los carcinomas, dividiendo en cirugía, braquiterapia, cirugía más radioterapia o cirugía más quimioterapia más radioterapia. En todas ellas se codificaron con 1 el NO y como 2 el SI.

Se recogió la existencia de recidiva, si era de tipo leucoplasia, carcinoma verrugoso o carcinoma de células escamosas.

Finalmente se registró el tratamiento aplicado en la leucoplasia verrugosa proliferativa, si era de cirugía, radioterapia, quimioterapia o láser CO2.

A todos los pacientes se les realizó una radiografía panorámica (ortopantomografía) y a los que presentaron un cáncer además se les realizó una RM (Resonancia Magnética) para el estudio de extensión de la lesión y estudio de las posibles adenopatías cervicales o un TC (tomografía computerizada) cuando sospechábamos afectación ósea, puesto que esta última exploración radiológica permite visualizar mejor el tejido óseo.

La toma de biopsia incisional se realizó bajo anestesia local en la consulta de cirugía ambulatoria del Servicio de Estomatología del Hospital General Universitario de Valencia, recogiendo un fragmento representativo de la lesión intraoral mediante bisturí frío. Posteriormente al paciente se le prescribía tratamiento antibiótico y antiinflamatorio durante una semana, hasta la fecha de retirada de los puntos de sutura. Como los pacientes de leucoplasia verrugosa proliferativa pueden mostrar una amplia variedad de lesiones tanto clínica como histológicamente a lo largo de su evolución, las biopsias se tomaron en diferentes estadios de la enfermedad.

La muestra obtenida durante la biopsia, se utilizó para su posterior examen histológico. En algunos pacientes la muestra fue dividida en dos fragmentos antes de procesarse para su estudio histológico y se congeló uno de los fragmentos rápidamente en nitrógeno líquido para su posterior estudio biomolecular. Si el estudio buscaba la detección del Virus Papiloma Humano, la muestra se congelaba a -40°C. Si el estudio era para la detección de virus del Epstein-Barr la muestra se congelaba a -80C.

A un subgrupo de 4 pacientes de leucoplasia verrugosa proliferativa, se les recogió un enjuague oral realizado con 150 ml de suero estéril, que también fue

congelado a -40°C con el fin de detectar el Virus Papiloma Humano. El estudio de las muestras tisulares se realizó en 10 pacientes de nuestro estudio.

El estudio del DNA del virus de Epstein-Bar se realizó sobre las biopsias de un grupo de 20 pacientes que dividimos en 3 subgrupos. En el subgrupo 1, formado por 10 pacientes de LVP (que formaban parte de los 32 pacientes de nuestro estudio), se tomó un fragmento de la lesión intraoral representativa. En el subgrupo 2, formado por 5 pacientes con COCE y sin antecedentes de LVP, la biopsia se tomó del carcinoma. En el subgrupo 3, formado por 5 pacientes sin patología de mucosas y sin otro tipo de lesiones, la biopsia se tomó de mucosa oral clínicamente normal, en la zona del colgajo mucoperióstico utilizado para la exodoncia de los terceros molares incluidos.

El método utilizado para el estudio del DNA de los virus HPV y Epstein-Barr, fue la técnica de PCR y la tipificación por Secuenciación de ADN. Mediante estas técnicas se obtiene la secuencia de nucleótidos que conforman una determinada región del ADN viral. La extracción del ADN de las muestras se realiza por duplicado y así se somete a dos reacciones de PCR, una de ellas con oligonucleótidos específicos del virus a estudiar y otra con oligonucleótidos específicos de un gen humano que permite verificar la calidad del ADN extraído. Si la reacción específica de PCR es negativa se puede realizar una segunda reacción de PCR para verificar el resultado. Si la reacción es positiva se realiza el tipaje de alta resolución mediante la secuenciación del fragmento de PCR obtenido y su posterior comparación frente a una base de datos.

En el caso del estudio de Virus Papiloma Humano, la extracción de DNA del tejido congelado fue utilizando el Kit de extracción High Pure PCR Template Preparation de Roche, siguiendo las instrucciones del fabricante: el tejido se incubó a 55°C con una solución tampón buffer de lisis de Roche y $40\ \mu\text{l}$ de proteínasa K de Roche. El DNA se diluyó en $200\ \mu\text{l}$ de H_2O .

El DNA de las muestras del enjuague oral se extrajo tras transferir la muestra a 15 ml a un tubo estéril y se centrifugó durante 2 minutos a 4000 rpm con el fin de obtener un precipitado celular.

El precipitado se resuspendió 200 µl de tampón PBS. Las extracciones se llevaron a cabo mediante el Kit de extracción QIA amp DNA blood Midi (QIAGEN) siguiendo las recomendaciones técnicas del fabricante. El ADN se diluyó en 200 µl de H₂O.

La detección cualitativa del virus del Papiloma Humano (VPH) se realizó mediante la técnica de PCR. La amplificación de PCR de las muestras procesadas se efectuó en un volumen de reacción de 50 µl, conteniendo 5 µl de 10X tampón PCR (100 mM Tris-HCL, 500 mM KCL), 1 µl de 10 mM dNTPs, 1 µl de 20 µM de oligonucleótido directo y reverso, 1U de Taq DNA polimerasa GOLD (Applied Biosystem) y 5 µl del extracto de ADN obtenido de las muestras anteriores.

La amplificación se llevó a cabo con dos clases de oligonucleótidos. El sistema PGMY consiste en una mezcla de oligonucleótidos 5 directos y 13 reversos que detectaron más de 30 tipos de HPV. Estos oligonucleótidos contienen una amplificación eficaz de al menos 10 genomas por PCR (*Gravitt). Como controles positivos en cada reacción de PCR se utilizó DNA de donantes HPV positivo. Como controles negativos se utilizaron los mismos componentes descritos previamente pero sin DNA.

El segundo set de oligonucleótidos, utilizados en cada una de las muestras fueron el HBBE2F (GCTGCTGGTGGTCTACCCTTG) y el HBBE2R (GAAAGAAAACATCAAGCGTCCC). Estos oligonucleótidos amplifican un fragmento de 254 bp del gen de la β-hemoglobina humana y se utiliza para tener un control preciso de la presencia y calidad del DNA en cada una de las muestras

procesadas. La amplificación de la β -hemoglobina se llevó a cabo en 25 μ l bajo las mismas condiciones descritas para la amplificación PCR específica del HPV.

Con los oligonucleótidos PGMY, se amplificaron los genotipos de HPV 6,11,16,18,26, 31,33,35,40,45,51,52,56 y 59 con al menos la sensibilidad de 1 genoma por PCR. También se amplificaron los subtipos 39, 42, 53, 54,55, 58, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, IS39, CP8304, CP6108, MM4, MM7 y MM8.

Todas las reacciones de PCR se efectuaron en un termociclador Biometra T3 o T1 en las mismas condiciones: 10 min a 95°C al inicio seguido de 60 ciclos de 1 min a 95°C, 1 min a 60 °C y 1 min a 72°C, seguido de una fase final de 10 min a 72°C. El producto de las amplificaciones se visualizó mediante electroforesis en geles de agarosa preparados a una concentración del 2% y teñidos con bromuro de etidio.

Cuando estudiamos el virus de Epstein-Barr (EBV), todas las muestras fueron tisulares, utilizando para la extracción del DNA el Kit de extracción High Pure PCR Template Preparation de Roche, siguiendo las instrucciones del fabricante: el tejido se incubó a 55°C con la solución tampón de lisis de Roche y 40 μ l de proteinasa K de Roche. El ADN se diluyó en 200 μ l de H₂O.

El DNA de los enjuagues orales se extrajo tras transferir la muestra a un tubo estéril de 15 ml y se centrifugó durante 2 minutos a 4000 rpm con el fin de obtener un precipitado celular.

El precipitado se resuspendió 200 μ l de tampón PBS. Las extracciones se llevaron a cabo mediante el Kit de extracción QIA amp DNA blood Midi (QIAGEN) siguiendo las recomendaciones técnicas del fabricante. El ADN se diluyó en 200 μ l de H₂O.

La detección de EBV tuvo lugar mediante la técnica de PCR. La amplificación de PCR de las muestras procesadas se efectuó en un volumen de reacción de 25 μ l, conteniendo

2.5 µl de 10X tampón PCR (100 mM Tris-HCL, 500 mM KCL), 2.5 µl de MgCl₂ 25 mM, 0.5 µl de 10 mM dNTPs, 0.5 µl de cada 20 µM oligonucleótidos de EVB externos directos y reversos (Tabla 17 y Figura 9), 0.5 U de Taq DNA polimerasa GOLD (Applied Biosystem) y 5 µl del extracto de ADN obtenido de las muestras anteriores.

Las segundas amplificaciones de PCR se efectuaron bajo las mismas condiciones del sistema tampón descritas en la amplificación de PCR primera en un volumen de reacción de 50 µl conteniendo oligonucleótidos de EBV internos directos y reversos en vez de los externos y 1 µl de la PCR primaria. Como controles positivos en cada reacción se utilizó DNA cuantitativo viral de la vuelta B95-8 del virus de Epstein-Barr (Advanced Biotechnologies, Inc.). Nuestro límite de detección fueron 10 copias del virus por amplificación. Como control negativo se utilizaron los mismos componentes descritos previamente pero sin DNA.

Todas las reacciones de PCR se efectuaron en un termociclador Biometra T3 o T1 en las mismas condiciones: 2 min a 94°C al inicio seguido de 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 seg a 55 °C y 30 seg a 72°C, seguido de una fase final de 5 min a 72°C.

La presencia de PCR con DNA amplificable y la ausencia de inhibidores de PCR se comprobaron mediante la amplificación del gen de la β-hemoglobina humana como se ha descrito anteriormente para el virus de HPV.

El producto de las amplificaciones se visualizó mediante electroforesis en geles de agarosa preparados a una concentración del 2% y teñidos con bromuro de etidio.

4- TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos mediante el protocolo de estudio 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.

También hicimos una estadística analítica, empleamos el test de “ji al cuadrado” (χ^2) para valorar si existía asociación o independencia entre variables cualitativas. Consideramos significativos valores de $p < 0,05$.

- *tipo lesiones:* **leucoplasia homogénea múltiple** 1-NO 2-SI
- leucoplasia verrugosa** 1-NO 2-SI
- eritroleucoplasia** 1-NO 2-SI
- manchas melánicas** 1-NO 2-SI

- Histología:
 - **Número Biopsias** 1-7
 - **Hiperqueratosis** 1-NO 2-SI
 - **Displasia:** 1-NO 2-SI
 - **Carcinoma verrugoso** 1-NO 2-SI
 - **COCE** 1-NO 2-SI

- Evolución: **Carcinoma verrugoso** 1-NO 2-SI
- COCE** 1-NO 2-SI

- Número COCES (que ha desarrollado): 1-5

- Tiempo entre COCES: (meses)

- COCE:

Localización:

encía superior	1-NO	2- SI
encía inferior	1-NO	2- SI
paladar duro	1-NO	2- SI
paladar blando	1-NO	2- SI
mucosa yugal derecha	1- NO	2-SI
mucosa yugal izquierda	1-NO	2-SI
lengua dorsal	1-NO	2-SI
lengua ventral	1-NO	2-SI
labio superior	1-NO	2-SI
labio inferior	1-NO	2-SI
suelo boca	1-NO	2-SI
pilar amigdalino	1-NO	2-SI

- *tipo lesiones:*

ulceración	1-NO	2-SI
tumoración	1-NO	2-SI
mixta	1-NO	2-SI

- **Presencia1C:** 1-NO 2- SI

- **Tiempo** :(meses)

- **Localización:** 1- **encía superior**

2- **encía inferior**

3- **paladar duro**

4- **paladar blando**

5- **mucosa yugal derecha**

6- **mucosa yugal izquierda**

7- **lengua dorsal**

8- **lengua ventral**

9- **labio superior**

10- **labio inferior**

11- **suelo boca**

12- **pilar amigdalino**

- **Tipo clínico:**

1- **ulceración**

2- **tumoración**

3- **mixta**

tamaño: <1 cm 1-NO 2-SI

1-2 cm 1-NO 2-SI

2-3 cm 1-NO 2-SI

3-4 cm 1-NO 2-SI

<i>estadio:</i>	I	1-NO	2-SI
	II	1-NO	2-SI
	III	1-NO	2- SI
	IV	1-NO	2-SI

<i>tratamiento:</i>	cirugía	1-NO	2-SI
	braquiterapia	1-NO	2-SI
	cirugía + radioterapia	1-NO	2-SI
	cirugía + QT+RT	1-NO	2-SI

- **VHB** 1-NO 2-SI
- **VHC** 1-NO 2-SI
- **LPO** 1-NO 2-SI

- **Recidiva** : 1-NO 2- SI

- **Tipo recidiva:** **leucoplasia** 1-NO 2-SI
- Carcinoma verrugoso** 1-NO 2-SI
- COCE** 1-NO 2-SI

- **Tratamiento LVP:** **cirugía** 1-NO 2-SI
- Radioterapia** 1-NO 2-SI
- Quimioterapia** 1-NO 2-SI
- Laser CO2** 1-NO 2-SI

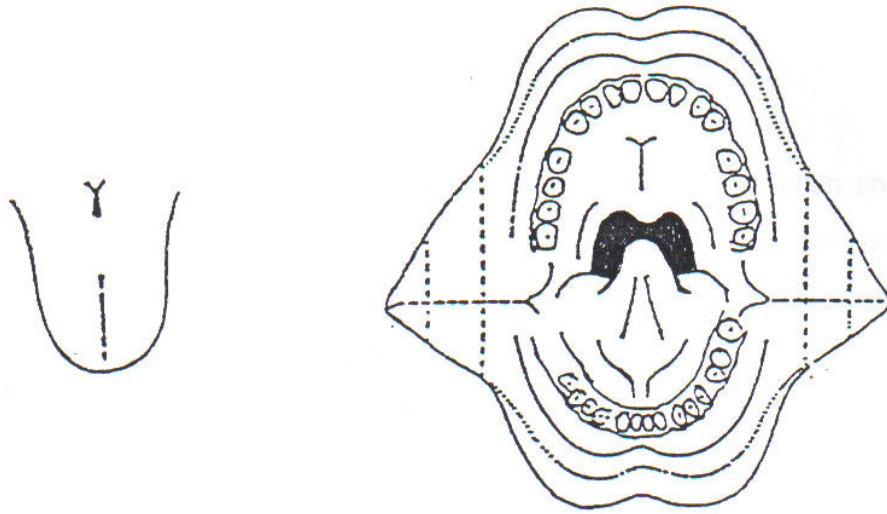


Figura 3. Diagrama para registrar las lesiones

RESULTADOS

ANÁLISIS DESCRIPTIVO

1-DATOS GENERALES

A. EDAD:

La edad media de los pacientes estudiados y tratados por nosotros fue de 73'03 años, con un valor mínimo de 46 años y un máximo de 96 años (tabla y gráfico nº1). La desviación estándar fue de 12'62 y el error estándar de 2'23.

Tabla Número 1: edad en años de los pacientes diagnosticados de leucoplasia verrugosa proliferativa

Edad (años)	Frecuencia	Porcentaje
46	1	3,1
56	2	6,3
57	2	6,3
59	1	3,1
60	2	6,3
62	1	3,1
65	1	3,1
66	1	3,1
68	1	3,1
69	1	3,1
73	3	9,4
75	1	3,1
76	1	3,1
78	2	6,3
80	1	3,1
81	2	6,3
83	2	6,3
84	2	6,3
87	1	3,1
89	1	3,1
91	2	6,3
96	1	3,1
Total	32	100,0

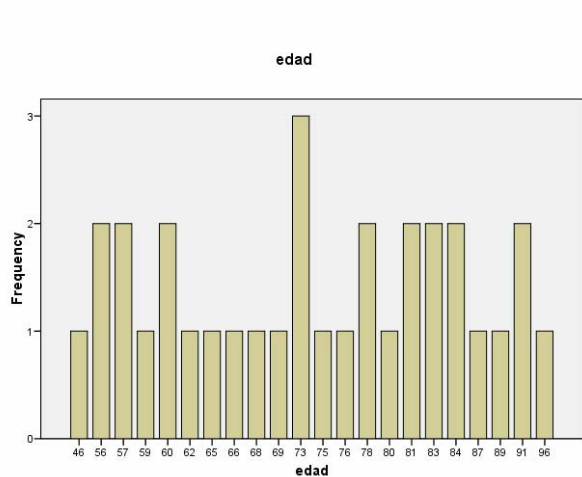


GRÁFICO 1

B. SEXO:

En relación a los pacientes tratados de leucoplasia verrugosa proliferativa, 7 eran varones (21'9%) y 25 mujeres (78'1%) (tabla n°2). Existía por tanto un claro predominio de mujeres (gráfico n°2).

Tabla Número 2: número de varones y mujeres

	Frecuencia	Porcentaje
1	7	21,9
2	25	78,1
Total	32	100,0

1- Varones

2-Mujeres

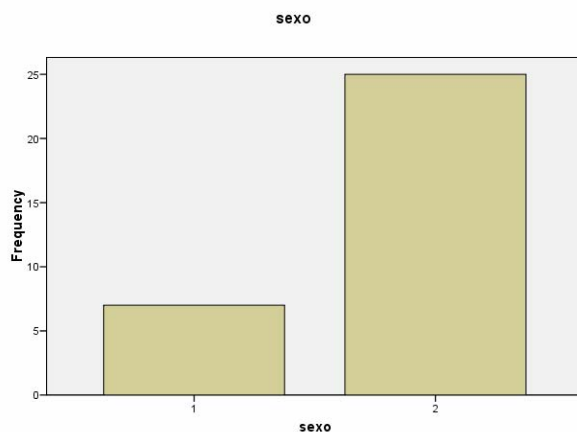


GRÁFICO 2: 1-varones 2-mujeres

C. HÁBITOS: CONSUMO TABACO

En relación a los hábitos de los pacientes tratados, 9 pacientes (28'12%) eran fumadores y 23 pacientes (71'87%) no lo eran (tabla y gráfico nº3).

Al agrupar a los pacientes fumadores en categorías según la cantidad de cigarrillos consumidos, encontramos primero un grupo en el que había un paciente (3'1%) que fumaba entre 0-10 cigarrillos/ día (una media de 5 cigarrillos); otro grupo de 6 pacientes (18'8%) que fumaban unos 10-20 cigarrillos al día (con una media de 15 cigarrillos) y finalmente un paciente (3'1%) que fumaba más de 20 cigarrillos al día (una media de 25 cigarrillos) (tabla y gráfico nº4). La cantidad media de cigarrillos fumados era de 3'69 cigarrillos al día, con un valor mínimo de 0 y un valor máximo de 25 cigarrillos.

Dentro del grupo de fumadores, de los 9 fumadores (28'12 %), 1 paciente (3'1%) no consumía cigarrillos sino puros, una media de 2 puros al día.

Tabla Número 3: número de fumadores y no fumadores

	Frecuencia	Porcentaje
1	23	71'87
2	9	28'12
Total	32	100,0

1- no fumadores

2- fumadores

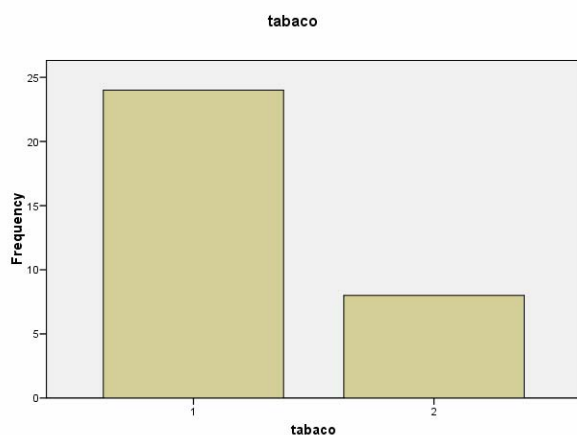


GRÁFICO 3: 1-no fumadores 2-fumadores

Tabla Número 4: cantidad de tabaco consumido entre los pacientes fumadores

Cantidad cigarrillos/día	Frecuencia	Porcentaje
0	23	71,9
1	1	3,1
2	1	3,1
15	6	18,8
25	1	3,1
Total	32	100,0

0- no fumadores

1- fumadores media de 5 cig/día

2- fumadores de 2 puros/día

15- fumadores media 15 cig/día

25- fumadores media 25 cig/día

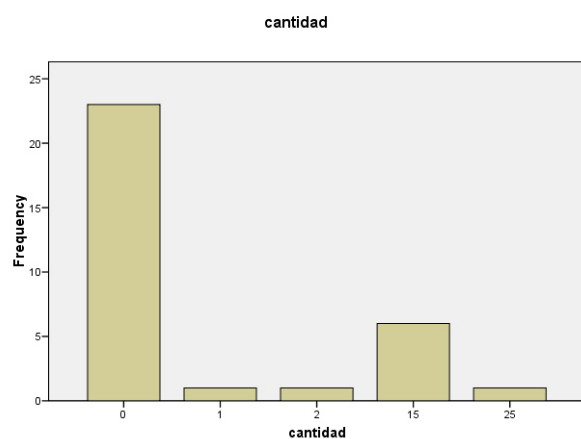


GRÁFICO 4:0-no fumadores

1-fumadores 5 cig/día

2-fumadores 2 puros/día

15-fumadores 15 cig/día

25- fumadores 25 cig/día

D. INFECCIONES VIRUS HEPATITIS

Al estudiar un posible origen vírico, se estudiaron los virus de la hepatitis B y

C. En relación al virus de la hepatitis B, se encontró que 1 paciente (3'1%) estaba infectado por este virus (tabla y gráfico n°5). En relación al de la hepatitis C, se encontraron 2 pacientes (6'3 %) infectados (tabla y gráfico n°6).

Tabla Número 5: Número de pacientes infectados por el virus de la hepatitis B

	Frecuencia	Porcentaje
1	31	96,9
2	1	3,1
Total	32	100,0

1-No hepatitis B

2-Hepatitis B

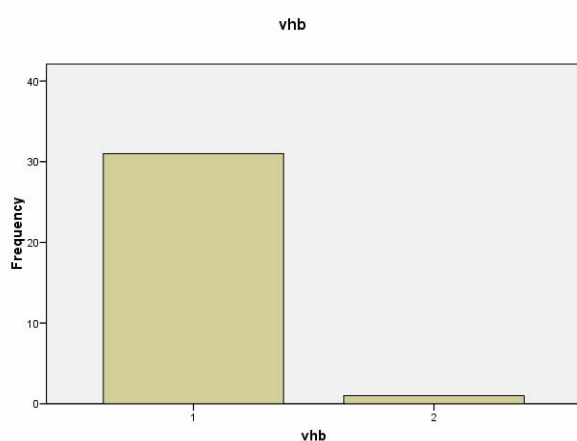


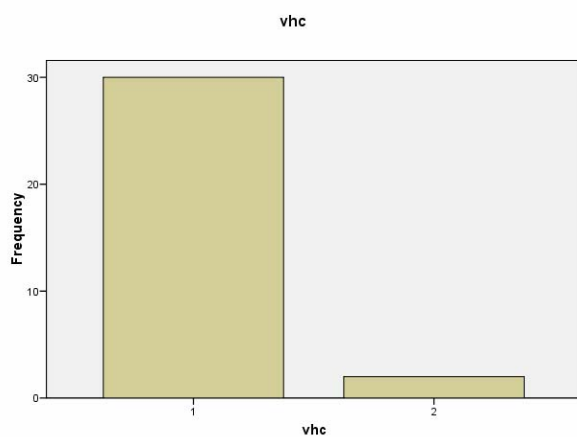
GRÁFICO 5: 1- no hepatitis B 2- hepatitis B

Tabla Número 6: Número de pacientes infectados por el virus de la hepatitis C

	Frecuencia	Porcentaje
1	30	93,8
2	2	6,3
Total	32	100,0

1-No hepatitis C

2-Hepatitis C



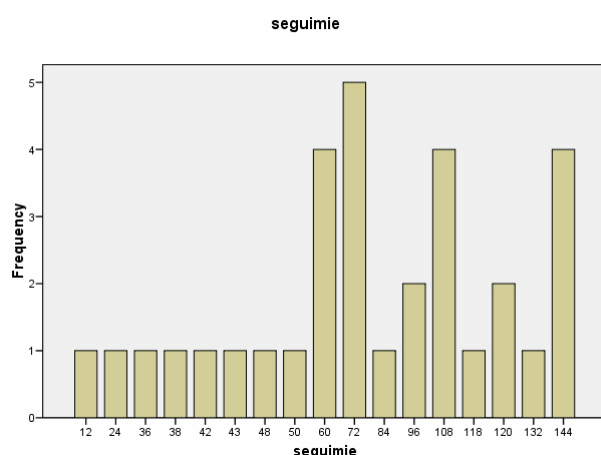
GRÁFICOS 6: 1- no hepatitis C 2- hepatitis C

2- SEGUIMIENTO

El tiempo en que los pacientes fueron seguidos y tratados por nuestro Servicio, se valoró en meses. La media fue de 83'34 meses de seguimiento, con un valor mínimo de 12 meses y un máximo de 144 meses (tabla y gráfico nº7). La desviación estándar dio un valor de 38'16, con un error estándar de 6'74.

Tabla Número 7: seguimiento en meses de los pacientes

Tiempo (meses)	Frecuencia	Porcentaje
12	1	3,1
24	1	3,1
36	1	3,1
38	1	3,1
42	1	3,1
43	1	3,1
48	1	3,1
50	1	3,1
60	4	12,5
72	5	15,6
84	1	3,1
96	2	6,3
108	4	12,5
118	1	3,1
120	2	6,3
132	1	3,1
144	4	12,5
Total	32	100,0



GRÁFICOS 7: seguimiento en meses

3- ESTUDIO DE LA CAVIDAD ORAL

Se analizaron también parámetros más específicos a la cavidad oral y de las lesiones que aparecían.

A. ANAMNESIS

En los pacientes se examinó la sintomatología oral acompañante, dividiéndola primero en dos grupos, en aquellos que referían dolor y en los que no.

El número de pacientes que refirieron desde el inicio dolor era de 11 pacientes (34'4%), 21 pacientes (65'6%) no refirieron ningún síntoma (tabla y gráfico n°8).

Tabla Número 8: Número de pacientes con dolor entre los pacientes

	Frecuencia	Porcentaje
1	21	65,6
2	11	34,4
Total	32	100,0

1-No sintomatología
2-Dolor

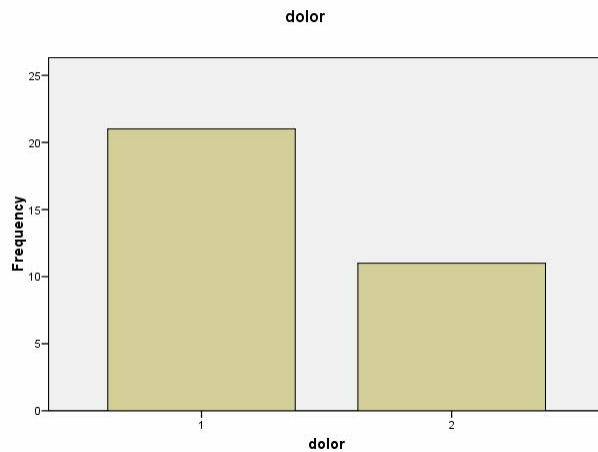


GRÁFICO 8: 1-no dolor 2- dolor

B. LOCALIZACIÓN DE LA LEUCOPLASIA VERRUGOSA PROLIFERATIVA

Se inspeccionaron las lesiones de leucoplasia de la mucosa oral y se registraron dividiéndolas según la situación anatómica.

Así se encontraron 23 pacientes (71'9%) con lesiones en encía superior, 26 pacientes (81'3%) en encía inferior, 16 pacientes (50%) en paladar duro, 5 pacientes (15'6%) en paladar blando, 19 pacientes (59'4%) en mucosa yugal derecha, 17 pacientes (53'1%) en mucosa yugal izquierda, 8 pacientes (25%) en lengua cara dorsal, 14 pacientes (43'8%) en lengua cara ventral, 6 pacientes (18'8%) en labio superior, 9 pacientes (28'1%) en labio inferior, 12 pacientes (37'5%) presentaban lesiones en suelo de boca y ningún paciente (0%) presentó lesiones de leucoplasia en pilar amigdalino (tabla n°9 y gráficos n°9 y 10).



Figura 4: leucoplasia en cara ventral de lengua



Figura 5: leucoplasia verrugosa en mucosa yugal izquierda en la misma paciente de la Figura 4

Tabla Número 9: localizaciones de las lesiones de leucoplasia verrugosa proliferativa

Localización	Frecuencia	Porcentaje
Encía superior	23	7´9
Encía inferior	26	8´3
Paladar duro	16	50
Paladar blando	5	15´6
M.Yugal derecha	19	59´4
M.Yugal izquierda	17	53´1
Lengua dorsal	8	25
Lengua ventral	14	43´8
Labio superior	6	18´8
Labio inferior	9	28´1
Suelo boca	12	37´5
Pilar amigdalino	0	0

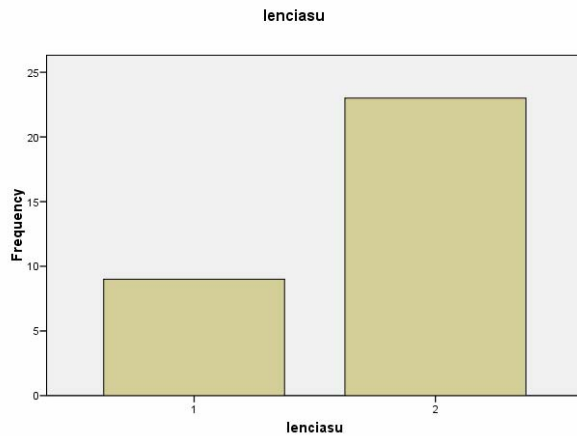


GRÁFICO 9: 1- no leucoplasia en encía superior 2- leucoplasia en encía superior

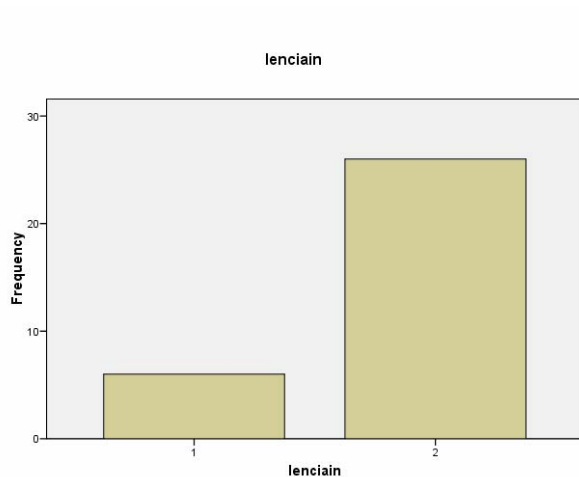


GRÁFICO 10: 1- no leucoplasia en encía inferior
2- leucoplasia en encía inferior



Figura 6: leucoplasia de encía (misma paciente de figura 4)

C. TIPO DE LESIONES

Las lesiones encontradas en la exploración oral se clasificaron en cuatro categorías, en lesiones tipo leucoplasia homogénea múltiple, lesiones tipo leucoplasia verrugosa, tipo eritroleucoplasia o tipo manchas melánicas.

Encontramos 29 pacientes (90'6%) con lesiones tipo leucoplasia homogénea múltiples, 29 pacientes (90'6%) con leucoplasia verrugosa, 18 pacientes (56'3%) con lesiones tipo eritroplasia y 4 pacientes (12'5%) con manchas melánicas (tabla n° 10 y gráficos n°11 y 12).

Tabla Número 10: tipo de lesiones encontradas en la exploración oral

	Frecuencia	Porcentaje
Leucoplasia homogénea múltiple	29	90'6
Leucoplasia verrugosa	29	90'6
Eritroplasia	18	56'3
Manchas melánicas	4	12'5

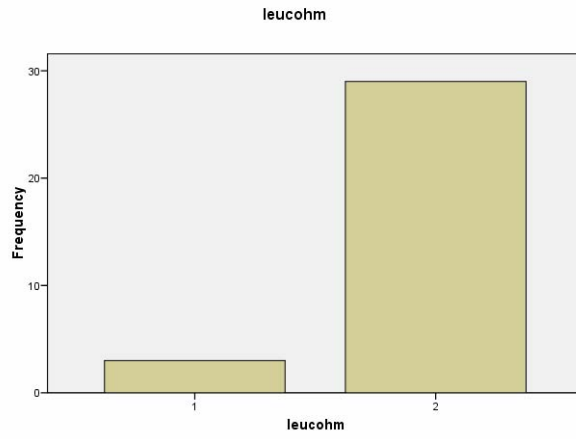


GRÁFICO 11: 1- no leucoplasia homogénea
2- leucoplasia homogénea



Figura 7: áreas de leucoplasia homogénea múltiple en encía superior y paladar en paciente de LVP

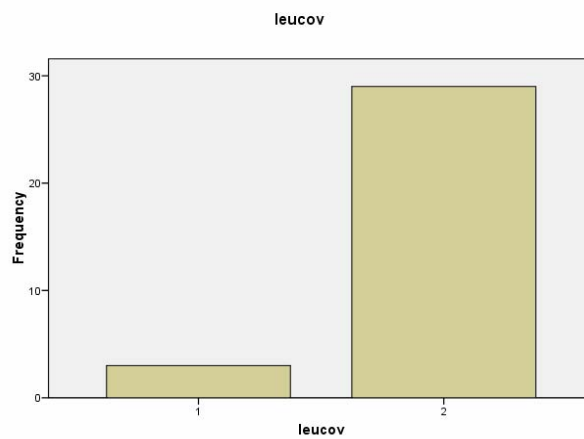


GRÁFICO 12: 1- no leucoplasia verrugosa
2- leucoplasia verrugosa



Figura 8: leucoplasia verrugosa de encía inferior en paciente de LVP

D. HISTOLOGÍA

De todos los pacientes se tomó como mínimo una biopsia y anotamos todos los datos relacionados con estas histologías.

Al registrar el número de biopsias que se realizaron a cada paciente obtuvimos una media de 3'41 biopsias, con un valor mínimo de 1 biopsia (observamos que en 7 pacientes se realizó 1 biopsia) y un máximo de 8 biopsias (en 1 paciente se realizó 8 biopsias), con una desviación standard de 2'168 y un error estándar de 0'383 (tabla nº11 y gráfico nº 13).

De las histologías obtenidas, 24 biopsias (75%) respondían a hiperqueratosis, 14 histologías (43'8%) a displasias (englobando aquí leves, moderadas y severas), 11 biopsias (34'4%) correspondían a carcinomas verrucosos y 19 histologías (59'4%) a carcinomas orales de células escamosas (tabla nº 12 y gráficos nº 14 y 15).

Tabla Número 11: Número Biopsias realizadas a los pacientes

Número Biopsias	Frecuencia	Porcentaje
1	7	21,9
2	7	21,9
3	6	18,8
4	2	6,3
5	4	12,5
6	1	3,1
7	4	12,5
8	1	3,1
Total	32	100,0

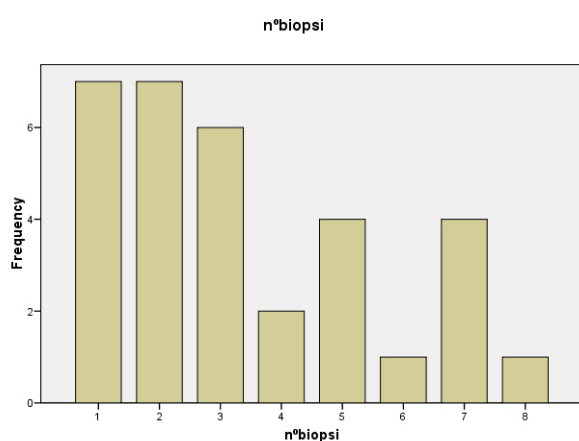


GRÁFICO 13: n° de biopsias realizadas a los pacientes

Tabla Número 12: diagnóstico histológico de las biopsias estudiadas

	Frecuencia	Porcentaje
Hiperqueratosis	24	75
Displasia	14	43´8
Carcinoma verrugoso	11	34´4
Carcinoma oral cél.escamosas	19	59´4

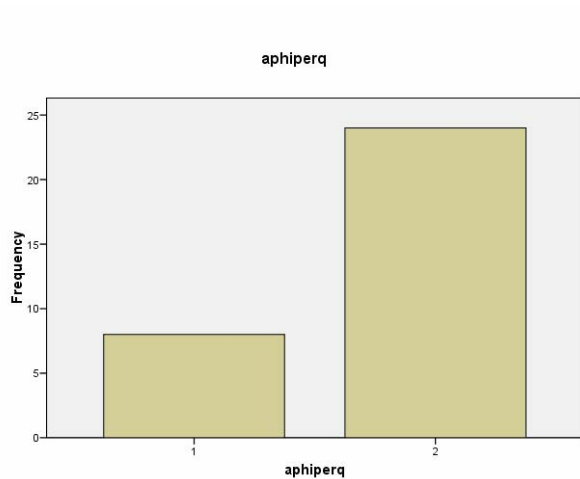


GRÁFICO 14: 1- no histología de hiperqueratosis 2- histología de hiperqueratosis

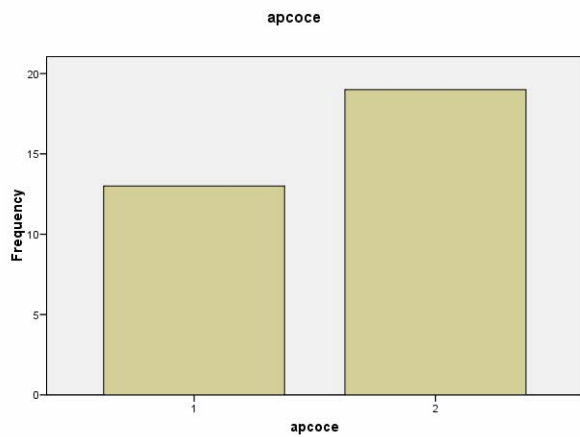


GRÁFICO 15: 1- no histología de carcinoma oral células escamosas
2- histología de carcinoma oral células escamosas

E. LESIONES ASOCIADAS DE LIQUEN PLANO ORAL

Se inspeccionaron y se registraron todas las lesiones asociadas que los pacientes presentaban en la mucosa oral. Observamos con mayor frecuencia el liquen plano.

A la exploración de cavidad oral encontramos 17 pacientes con lesiones compatibles con un liquen plano oral, representando un porcentaje del 53'1 % (tabla n°13 y gráfico 16). Fueron todos ellos confirmados histológicamente.

Tabla Número 13: Número de pacientes con liquen plano oral entre los pacientes con leucoplasia verrugosa proliferativa

	Frecuencia	Porcentaje
1	15	46,9
2	17	53,1
Total	32	100,0

- 1-No lesiones de liquen plano oral
- 2-Lesiones de liquen plano oral asociadas

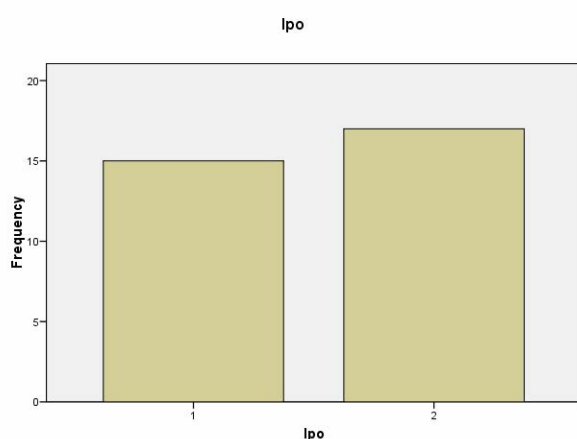


GRÁFICO 16: 1- no lesiones liquen plano oral 2- lesiones de liquen plano oral

F- ASOCIACIÓN DE LA LVP CON VIRUS PAPILOMA HUMANO Y EPSTEIN-BARR

F.1- Asociación de la LVP con el Virus Papiloma Humano

Analizamos mediante el método del PCR la posible presencia del virus papiloma humano en 10 pacientes con leucoplasia verrugosa proliferativa en diferentes estadios de la enfermedad. Sin embargo el virus fue indetectable en las 10 muestras titulares congeladas, incluso en aquellos pacientes que presentaban un carcinoma oral de células escamosas (tabla nº14). En aquellas muestras donde la reacción específica de PCR había resultado negativa se realizó una segunda prueba de PCR para confirmar el resultado.

Tabla Número14. Pacientes del estudio a los que se les realizó el análisis de PCR tisular

Caso	Edad	Género	Tabaco	Localización de LVP	Histología (*)	Número de COCE (**)	HPV (***)
1	72	Mujer	Sí	Lengua, Encía, Mucosa yugal, Paladar duro	COCE	3	Negativo
2	86	Mujer	No	Encía, Mucosa yugal, Paladar duro	COCE	3	Negativo
3	77	Mujer	No	Encía, Paladar duro, Labio	COCE	2	Negativo
4	72	Mujer	No	Encía	COCE	3	Negativo
5	54	Mujer	No	Encía, Lengua, Mucosa yugal	COCE	2	Negativo
6	45	Mujer	Sí	Encía, Lengua, Mucosa yugal, Paladar duro	Hiperqueratosis, Displasia moderada	-	Negativo
7	82	Mujer	No	Encía, Mucosa yugal	COCE	1	Negativo
8	83	Mujer	No	Encía, Mucosa yugal, Paladar duro, Lengua	Hiperqueratosis, displasia moderada	-	Negativo
9	76	Mujer	No	Encía, Mucosa yugal, Lengua	Hiperqueratosis, displasia	-	Negativo
10	66	Mujer	Sí	Encía, Suelo de boca, Lengua, Paladar duro	Hiperqueratosis, displasia	-	Negativo

() Histología de la misma área donde se realizó el PCR*

*(**) Número de carcinomas orales de células escamosas que se desarrollaron durante su evolución*

*(***) Estudio de PCR para determinar la infección por HPV*

COCE: carcinoma oral de células escamosas

Se recogió un enjuague oral con 150 ml de suero estéril en 4 pacientes de LVP con el fin de estudiar la presencia del virus papiloma humano mediante la técnica de PCR, pero el virus fue indetectable en las 4 muestras. Tampoco pudimos demostrar su presencia en los pacientes que mostraban un carcinoma oral de células escamosas (tabla nº15).

Tabla Número15: Pacientes del estudio a los que se les realizó el análisis de PCR en el enjuague oral

Caso	Edad	Género	Tabaco	Localización oral de LVP	COCE (*)	Número COCE (**)	HPV (***)
10	66	Mujer	No	Encía, Suelo boca, Lengua, Paladar duro	No	-	Negativo
11	59	Mujer	Sí	Encía, Mucosa yugal, Paladar duro	Sí	3	Negativo
12	58	Mujer	No	Encía, Mucosa Yugal	Sí	1	Negativo
13	58	Mujer	No	Encía, Lengua	No	-	Negativo

(*) *COCE en el mismo momento en el se recogió el enjuague oral*

(**) *Número de carcinomas orales de células escamosas durante su evolución*

(***) *Estudio de PCR para determinar la infección por HPV*

COCE: carcinomas orales de células escamosas

F2.- Asociación de la LVP con el Virus Epstein-Barr

Estudiamos la posible presencia del virus de Epstein-Barr con la leucoplasia verrugosa proliferativa y el carcinoma oral de células escamosas en 20 pacientes subdivididos en 3 subgrupos (tabla nº16).

En el subgrupo 1 formado por 10 pacientes de leucoplasia verrugosa proliferativa (que formaban parte de los 32 pacientes de nuestro estudio) debemos destacar que se detectó Epstein-Barr en un 60% (6 pacientes), además si tenemos en cuenta únicamente aquellos pacientes de este grupo de LVP que presentaban un carcinoma oral de células escamosas la positividad al Epstein-Barr es todavía mayor, de un 66% (3 pacientes de los 5 con COCE).

El subgrupo 2, formado por los 5 pacientes de COCE sin antecedentes de LVP, se detectó el virus en un 40% de los pacientes (2 pacientes).

Finalmente en el subgrupo 3, formado por 5 pacientes control con mucosa oral normal, no encontramos la presencia del virus Epstein-Barr en ningún paciente.

Tabla Número16. Resultados clínicos, histológicos y de la PCR en los nidos celulares para el virus Epstein-Barr en el subgrupo 1 (LVP); 2 (COCEs) y 3 (Controles).

Caso	Subgrupo	Edad	Género	Localización oral de las lesiones	Histología	EBV
1	1	75	Mujer	Encía, Paladar duro	COCE	+
2	1	74	Mujer	Encía, Paladar duro, Lengua, Mucosa yugal	COCE	+
3	1	90	Mujer	Encía, Paladar duro, Lengua, Mucosa Yugal	COCE	+
4	1	84	Mujer	Encía, Lengua, Mucosa yugal	Carcinoma verrugoso	+
5	1	81	Mujer	Encía, Lengua, Mucosa yugal	Hiperqueratosis, Displasia	+
6	1	68	Mujer	Encía, Lengua	Hiperqueratosis, Displasia	+
7	1	57	Mujer	Encía, Mucosa yugal	COCE	-
8	1	79	Mujer	Encía, Lengua	COCE	-
9	1	78	Mujer	Encía, Lengua	Hiperqueratosis, Displasia	-
10	1	53	Mujer	Encía, Lengua, Paladar duro, Mucosa yugal	Hiperqueratosis, Displasia	-
11	2	66	Hombre	Paladar blando	COCE	+
12	2	69	Hombre	Mucosa yugal	COCE	+
13	2	65	Mujer	Encía	COCE	-
14	2	69	Hombre	Lengua	COCE	-
15	2	37	Hombre	Encía	COCE	-
16	3	35	Hombre	-	No lesiones	-
17	3	21	Mujer	-	No lesiones	-
18	3	48	Mujer	-	No lesiones	-
19	3	45	Hombre	-	No lesiones	-
20	3	18	Hombre	-	No lesiones	-

Subgrupo 1: LVP

Subgrupo 2: COCE sin antecedentes de LVP

Subgrupo 3: Control – no lesiones

EBV: resultados positivos de PCR para virus Epstein-Barr

Tabla 17. Secuencia oligonucleótidos empleada para la detección cualitativa del DNA del virus de Epstein-Barr (EBV)

Primer	Sequence [5'-3']
EBV outerF	GAGACCGAAGTGAAGGCCCT
EBV outerR	GGTGCCTTCTTAGGAGCTGT
EBV innerF	GCCAGAGGTAAGTGGACTTTAAT
EBV innerR	GAGGGGACCCTGAGACGGGT

Figura 9

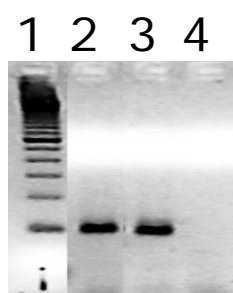


Figura 9. Análisis electroforético de los productos de PCR

Ruta 1: 100 pb escalera de DNA (GibcoBRL); Ruta 2: detección de EBV mediante la reacción de PCR, en una muestra positiva; Ruta 3: amplificación para EBV en un control positivo; Ruta 4: reacción de PCR negativo en un control

Lane1: 100 pb DNA Ladder [GibcoBRL]; Lane 2: EBV detection PCR reaction from a positive sample; Lane 3: positive control for EBV amplification; Lane 4: negative PCR control reaction.

G. EVOLUCIÓN

Algunos de los pacientes de leucoplasia verrugosa proliferativa evolucionaron a otro tipo de lesiones, nosotros registramos aquellos que desarrollaron carcinomas verrugosos o carcinomas orales de células escamosas.

De todos los pacientes estudiados, 8 pacientes (25%) desarrollaron un carcinoma verrugoso y 17 pacientes (53'1%) un carcinoma oral de células escamosas en la evolución de la enfermedad.

Del total de 32 pacientes del estudio encontramos 11 pacientes con histologías de carcinoma verrugoso, 3 de ellos en su primera visita ya presentaban esta histología, pero no volvieron a presentar ninguna recidiva con esta misma histología. Por otro lado 8 pacientes desarrollaron lesiones de carcinoma verrugoso en la evolución de su enfermedad (tabla n°18 y gráfico n°17).

Tabla Número 18: Número de pacientes que evolucionaron a carcinoma verrugoso

	Frecuencia	Porcentaje
1	24	75,0
2	8	25,0
Total	32	100,0

1- No evolución a carcinoma verrugoso

2- Evolución a carcinoma verrugoso

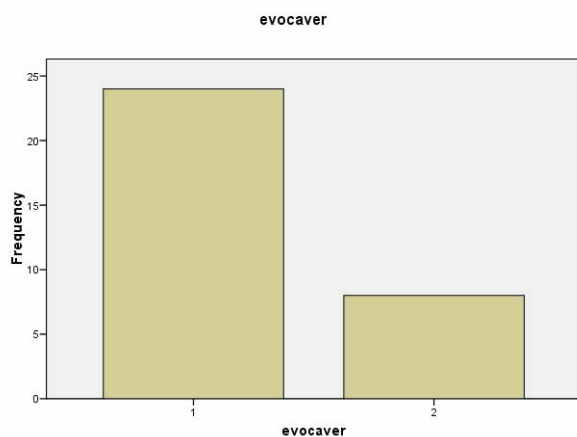


GRÁFICO 17: 1- no evolución carcinoma verrugoso
2- evolución carcinoma verrugoso

De los 32 pacientes del estudio, 19 pacientes presentaron histologías de carcinoma oral de células escamosas, 2 de ellos en su primera visita, al diagnóstico de la leucoplasia verrugosa proliferativa ya presentaban esta histología sin mostrar en su evolución nuevas lesiones. En el seguimiento de los otros 17 pacientes se apreció la evolución a lesiones de carcinoma oral de células escamosas (tabla n°19 y gráfico n°18).

Tabla Número 19: Número de pacientes que evolucionaron a carcinoma oral de células escamosas

	Frecuencia	Porcentaje
1	15	46,9
2	17	53,1
Total	32	100,0

1- No evolución a carcinoma oral cél.escamosas

2- Evolución a carcinoma oral cél.escamosas

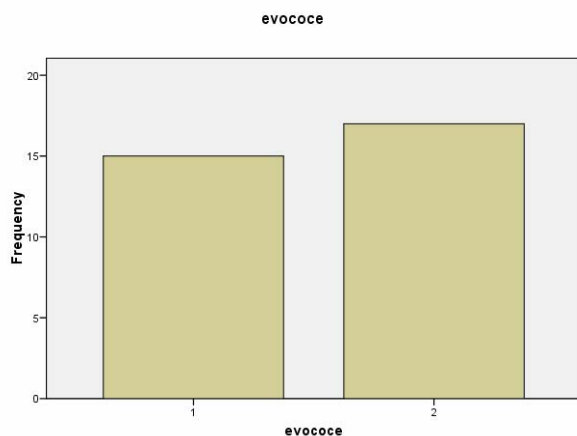


GRÁFICO 18: 1- no evolución carcinoma oral células escamosas
2- evolución carcinoma oral células escamosas

G.1- Carcinoma oral de células escamosas

La leucoplasia verrugosa proliferativa se caracteriza por presentar una alta tendencia a desarrollar carcinoma oral de células escamosas, registramos una serie de parámetros relacionados con este tipo de carcinomas.

Número de carcinomas orales células escamosas

Clasificamos la incidencia de estos carcinomas en seis grupos, según el número de carcinomas que habían desarrollado los pacientes durante la evolución de la enfermedad. Obtuvimos de esta forma que 13 pacientes (40'6%) no mostraron ningún carcinoma y 19 pacientes (59'4%) mostraron cómo mínimo 1 carcinoma. De este último grupo 7 pacientes (21'9%) presentaron un carcinoma, en 5 pacientes (15'6%) encontramos dos carcinomas, 4 pacientes (12'5%) desarrollaron tres carcinomas, 2 pacientes (6'3%) desarrollaron cuatro carcinomas y 1 paciente (3'1%) llegó a desarrollar 7 carcinomas (ver tabla nº20 y gráfico nº19). La media de carcinomas presentados por los pacientes fue de 1'38, con un valor mínimo de 0 y un valor máximo de 7.

Tabla Número 20: Número carcinomas orales de células escamosas desarrollado por los pacientes de leucoplasia verrugosa proliferativa

	Frecuencia	Porcentaje
0	13	40,6
1	7	21,9
2	5	15,6
3	4	12,5
4	2	6,3
7	1	3,1
Total	32	100,0

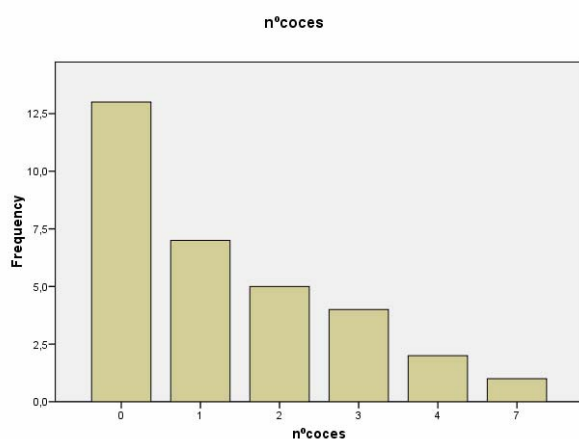


GRÁFICO 19: n° COCE desarrollados por por pacientes de LVP

Tiempo entre carcinomas orales de células escamosas

De los 19 pacientes (59'4%) que desarrollaron un carcinoma o más estudiamos el tiempo transcurrido entre la aparición de cada uno de ellos y los agrupamos según los meses transcurridos entre el diagnóstico de los carcinomas.

Al estudiar la aparición del primer carcinoma, obtuvimos una media de 17'05 meses para la aparición del primer carcinoma, un valor mínimo 0 meses y un máximo de 72 meses. Encontramos 8 pacientes (25%) que en su primera visita ya presentaban un carcinoma, 1 paciente (3'1%) desarrolló el carcinoma a los 3 meses de empezar las revisiones con nosotros, 1 paciente (3'1%) presentó el cáncer a los 4 meses, 1 paciente (3'1%) a los 7 meses, 1 paciente (3'1%) a los 10 meses, otro (3'1%) a los 14 meses, otro (3'1%) a los 22 meses y otro (3'1%) a los 24 meses. También hallamos 2 pacientes (6'3) que desarrollaron el carcinoma a los 48 meses y otros dos pacientes (6'1%) lo desarrollaron a los 72 meses (tabla nº21 y gráfico nº20).



Figura 10: paciente de LVP con lesiones leucoplasia homogénea múltiple en encía inferior (imagen de su primera visita)

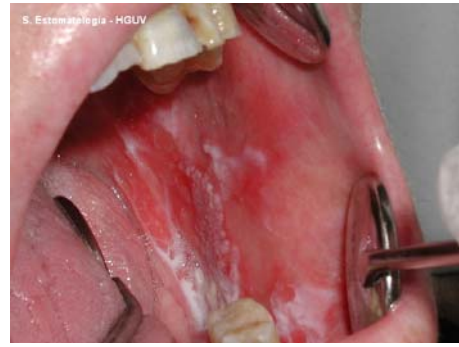


Figura 11: misma paciente de figura 10, simultáneamente presenta un carcinoma oral de células escamosas en mucosa yugal izquierda

Tabla Número21: tiempo en meses transcurrido hasta desarrollar el primer carcinoma

	Tiempo (meses)	Frecuencia	Porcentaje
	0	8	25,0
	3	1	3,1
	4	1	3,1
	7	1	3,1
	10	1	3,1
	14	1	3,1
	22	1	3,1
	24	1	3,1
	48	2	6,3
	72	2	6,3
	Total	19	59,4
		13	40,6
Total		32	100,0

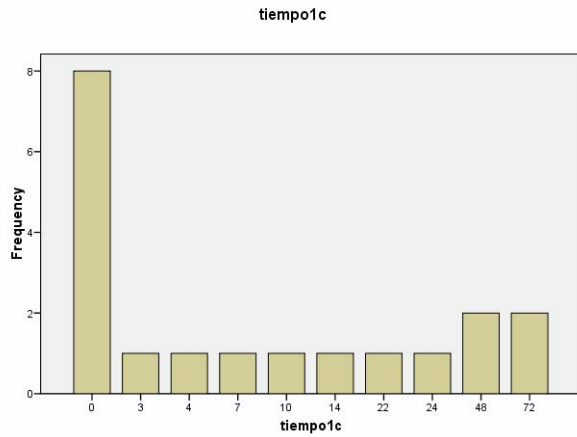


GRÁFICO 20. tiempo transcurrido en desarrollo de primer COCE en meses

De los 13 pacientes (40'6%) que desarrollaron un segundo carcinoma, medimos el tiempo transcurrido, en meses, entre el diagnóstico del primer carcinoma y del segundo. Encontramos 1 paciente (3'1%) que en su primera visita ya presentaba un segundo carcinoma, es decir que presentaba simultáneamente dos carcinomas. Hallamos 3 pacientes (9'4%) que desarrollaron el segundo carcinoma a los 6 meses del diagnóstico del primer carcinoma, 2 pacientes (6'3%) a los 12 meses, 3 pacientes (9'4%) a los 24 meses, 1 paciente (3'1%) tardó 33 meses, 2 pacientes (6'3%) a los 48 meses y 1 paciente (3'1%) a los 60 meses del diagnóstico de su primer carcinoma (tabla n° 22 y gráfico n°21).

Tabla Número 22: tiempo en meses transcurrido entre el primer y el segundo carcinoma

	Tiempo (meses)	Frecuencia	Porcentaje
	0	1	3,1
	6	3	9,4
	12	2	6,3
	24	3	9,4
	33	1	3,1
	48	2	6,3
	60	1	3,1
	Total	13	40,6
		19	59,4
Total		32	100,0

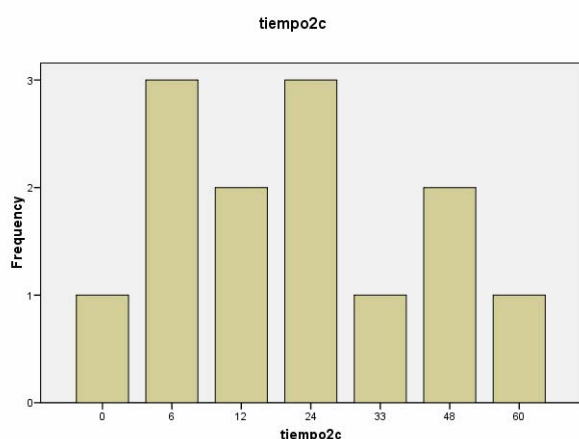


GRÁFICO 21: tiempo transcurrido entre el 1° COCE y el desarrollo del 2° COCE en meses

Comprobamos que 8 pacientes (25%) de LVP desarrollaron un tercer carcinoma y medimos el tiempo transcurrido en meses entre el diagnóstico del segundo y del tercer carcinoma. Uno de los pacientes (3'1%) lo presentó a los 2 meses, otro paciente (3'1%) a los 4 meses y otro (3'1%) a los 18 meses. Hubo 4 pacientes (12'5%) que evolucionaron a un tercer carcinoma a los 24 meses del segundo y finalmente 1 pacientes (3'1%) a los 48 meses (tabla n°23 y gráfico n°22).

Tabla Número 23: tiempo en meses transcurrido entre el segundo y el tercer carcinoma

	Tiempo (meses)	Frecuencia	Porcentaje
	2	1	3,1
	4	1	3,1
	18	1	3,1
	24	4	12,5
	48	1	3,1
	Total	8	25,0
		24	75,0
Total		32	100,0

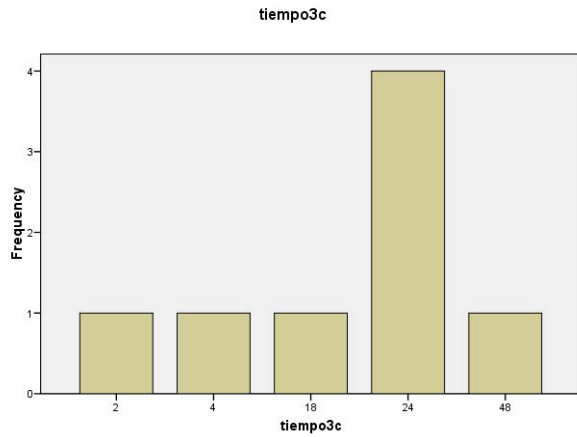


GRÁFICO 22: tiempo transcurrido entre el 2º COCE y el desarrollo del 3º COCE en meses

En el estudio encontramos 3 pacientes (9'4%) que desarrollaron un cuarto carcinoma, 1 de ellos (3'1%) a los 2 meses del diagnóstico del tercer carcinoma, 1 paciente (3'1%) a los 7 meses y otro (3'1%) a los 12 meses (tabla nº24 y gráfico nº23).

Tabla de frecuencia Número24: tiempo en meses transcurrido entre el tercer y el cuarto carcinoma

	Tiempo (meses)	Frecuencia	Porcentaje
	2	1	3,1
	7	1	3,1
	12	1	3,1
	Total	3	9,4
		29	90,6
Total		32	100,0

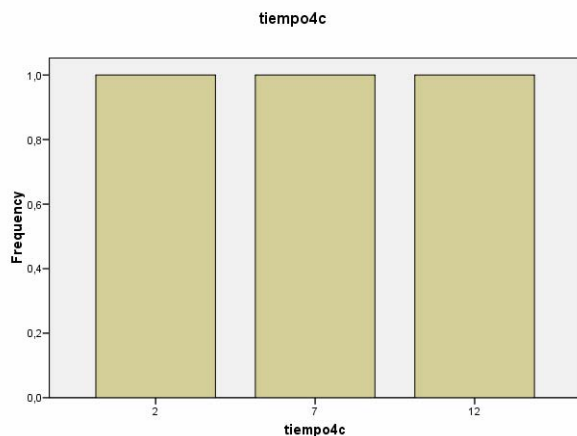


GRÁFICO 23: tiempo transcurrido entre el 3° COCE y el desarrollo del 4° COCE en meses

Hallamos 1 paciente (3'1%) que desarrolló un quinto carcinoma a los 12 meses del diagnóstico del cuarto carcinoma. Esta paciente (3'1%) presentó un sexto carcinoma a los 3 meses del diagnóstico del quinto, e incluso llegó a presentar un séptimo carcinoma en la evolución de la enfermedad, transcurriendo 3 meses del diagnóstico del sexto (tablas n°25,26, 27 y gráficos n°24,25 y 26).

Tabla Número 25: tiempo en meses transcurrido entre el cuarto y el quinto carcinoma

	Tiempo (meses)	Frecuencia	Porcentaje
	12	1	3,1
		31	96,9
Total		32	100,0

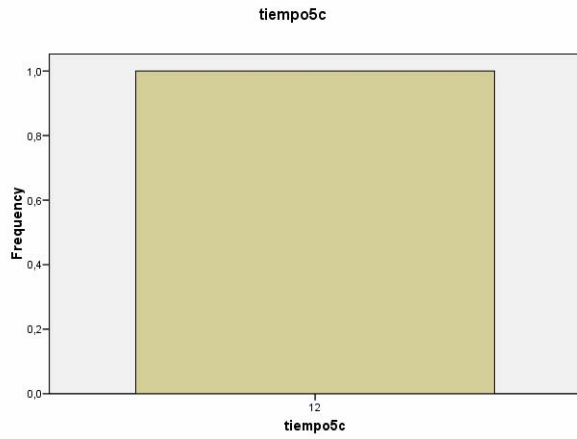


GRÁFICO 24: tiempo transcurrido entre el 4° COCE y el desarrollo del 5° COCE en meses

Tabla Número26: tiempo en meses trancurrido entre el quinto y el sexto carcinoma

	Tiempo (meses)	Frecuencia	Porcentaje
	3	1	3,1
		31	96,9
Total		32	100,0

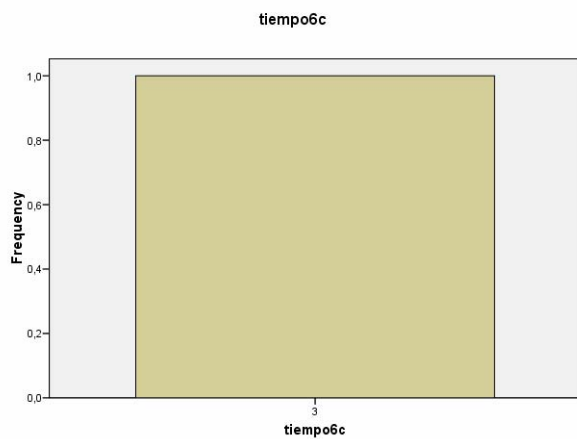


GRÁFICO 25: tiempo transcurrido entre el 5° COCE y el desarrollo del 6° COCE en meses

Tabla Número 27: tiempo en meses trancurrido entre el sexto y el séptimo carcinoma

	Tiempo (meses)	Frecuencia	Porcentaje
	6	1	3,1
		31	96,9
Total		32	100,0

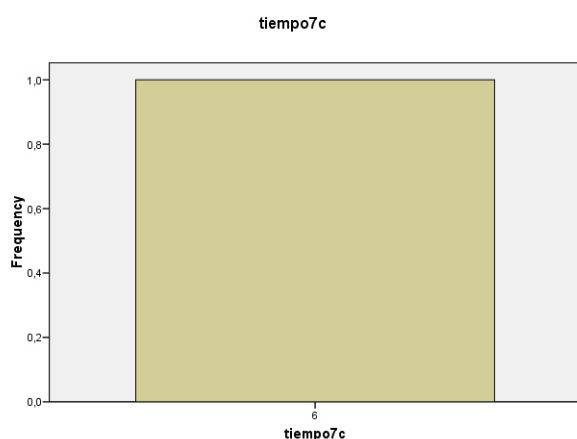


GRÁFICO 26: tiempo transcurrido entre el 6º COCE y el desarrollo del 7º COCE en meses

Localización del carcinoma oral de células escamosas

En los 19 pacientes que desarrollaron carcinomas orales de células escamosas recogimos la localización de cada uno de ellos. Así vimos que la localización más frecuente fue la encía inferior, encontrando 10 pacientes (31'3 %) que presentaron esta localización. En orden de frecuencia le siguieron la encía superior y el paladar duro, al mostrar 6 pacientes (18'8) cada una (ver gráficos nº 27 y 28). Se observó que 3 pacientes (9'4%) exhibieron las lesiones en mucosa yugal derecha, 3 pacientes (9'4%) en mucosa yugal izquierda y 3 pacientes (9'4%) en borde lateral izquierdo de lengua. Las localizaciones menos frecuentes fueron el paladar blando, el borde lateral derecho de lengua y el pilar amigdalino con 2 pacientes (6'3 %). En menor orden de frecuencia encontramos que 1 paciente (3'1%) exhibió carcinoma en el labio superior y 1 paciente (3'1%) en el suelo de boca.

Debemos destacar que a pesar de que de los 32 pacientes con LVP estudiados, 9 pacientes (28'1%) presentaron lesiones leucoplásicas en labio inferior, ningún paciente desarrolló carcinoma en esta localización (tabla nº27).

Tabla Número27: localizaciones de los carcinomas orales de células escamosas que desarrollaron los pacientes

Localización	Frecuencia	Porcentaje
Encía superior	6	18'8
Encía inferior	10	31'3
Paladar duro	6	18'8
Paladar blando	2	6'3
Mucosa yugal derecha	3	9'4
Mucosa yugal izquierda	3	9'4
Lengua borde derecho	2	6'3
Lengua lado izquierdo	3	9'4
Labio superior	1	3'1
Labio inferior	0	0
Suelo boca	1	3'1
Pilar amigdalino	2	6'3

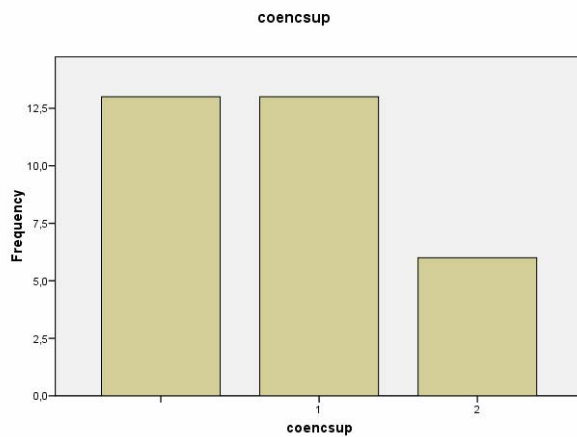


GRAFICO 27: 1- no COCE encía superior 2- COCE encía superior

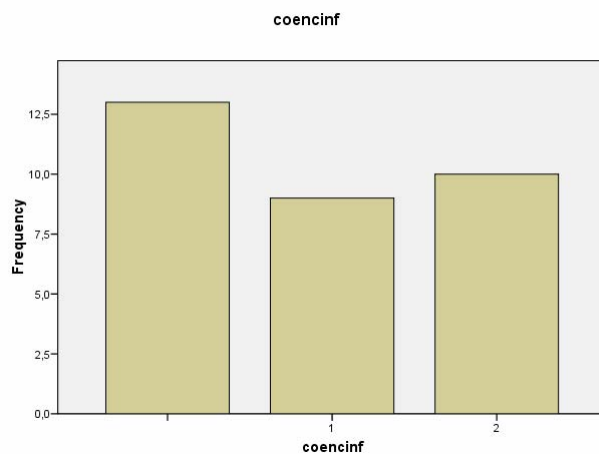


GRAFICO 28: 1- no COCE encía inferior 2- COCE encía inferior

Tipo de lesiones del carcinoma oral de células escamosas

Al estudiar la forma clínica, observamos que de los 32 casos estudiados, 12 lesiones (36'4%) tenían aspecto de ulceración (gráfico n°29), 10 lesiones (30'3%) mostraban aspecto de tumoraciones exofíticas (con aspecto leuco o eritroplásico) (gráfico 30) y 3 lesiones (9'1%) se presentaban en forma mixta, en las cuales se asociaba a la lesión ulcerada una tumoración exofítica (tabla n°28).

Tabla Número 28: Número de pacientes según la forma clínica de los carcinomas orales de células escamosas

Tipo lesión	Frecuencia	Porcentaje
Ulceración	12	31'3
Tumoración	10	31'3
Mixta	3	12'5

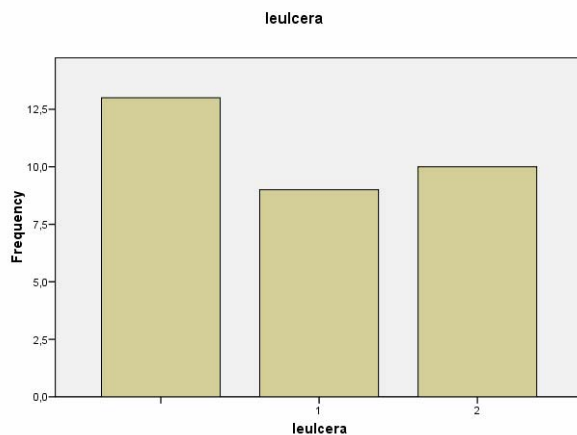


GRÁFICO 29: 1-no COCE forma ulcerada
2-COCE forma ulcerada

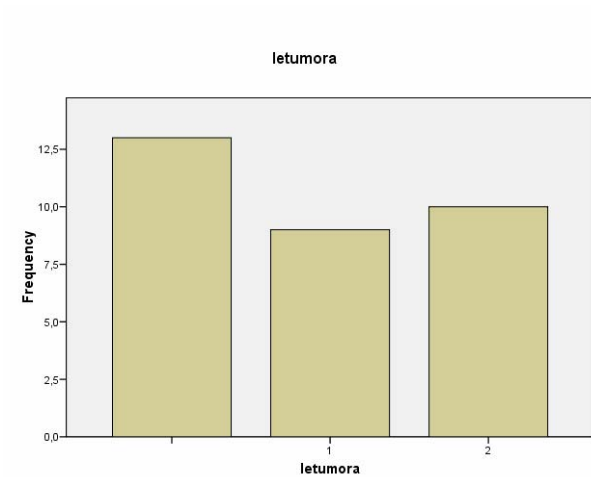


GRÁFICO 30: : 1-no COCE forma tumoración
2-COCE forma tumoración

Tamaño de la lesión

Al estudiar el tamaño de las lesiones tumorales, clasificamos los pacientes en cuatro grupos, estableciendo así un grupo de pacientes que presentaban lesiones de unos 0'5 cm de diámetro de media, un grupo de 1'5 cm de media, otro de 2'5cm de media y por último un grupo de unos 3'5 cm de diámetro de valor medio. De los 19 pacientes (59'4%) que desarrollaron carcinomas a lo largo de la enfermedad, 1 paciente (3'1%) mostró una lesión de 0'5cm de diámetro, 5 pacientes (15'6%) mostraron lesiones de 1'5 cm, 8 pacientes (25%) lesiones de 2'5 cm de diámetro y 5 pacientes exhibieron carcinomas de unos 3'5 cm de diámetro (tabla nº29 y gráfico nº 31).

Tabla Número 29: Número de pacientes según el tamaño de las lesiones tumorales

	Tamaño (cm)	Frecuencia	Porcentaje
	0,50	1	3,1
	1,50	5	15,6
	2,50	8	25,0
	3,50	5	15,6
	Total	19	59,4
		13	40,6
Total		32	100,0

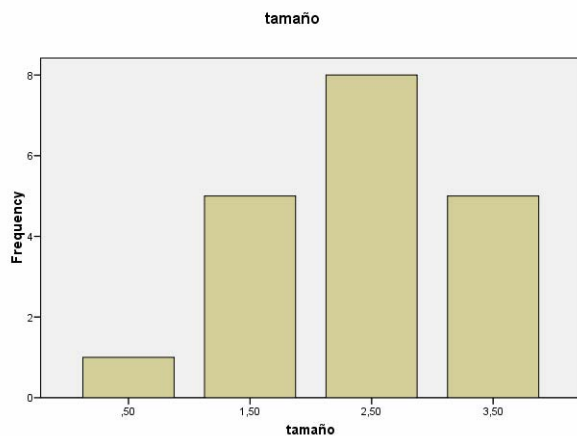


GRÁFICO 31: 0'50- 0'50 cm de tamaño de COCE
 1'50- 1'50 cm de tamaño de COCE
 2'50- 2'50 cm de tamaño de COCE
 3'50- 3'50 cm de tamaño de COCE

Estadio

De los 19 pacientes que desarrollaron un carcinoma, todos ellos se encontraban en estadios iniciales, estadio I y estadio II con tumoraciones menores de 4 cm y sin afectación ganglionar. En estadio I se encontraban 6 pacientes (18'8%) y 13 pacientes (40'6%) en el estadio II (tablas n°30,31 y gráfico n° 32,33).

Tabla de frecuencia Número 30: Número de pacientes con carcinomas en estadio I

	Frecuencia	Porcentaje
	13	40,6
1	13	40,6
2	6	18,8
Total	32	100,0

1- No estadio I

2- Estadio I

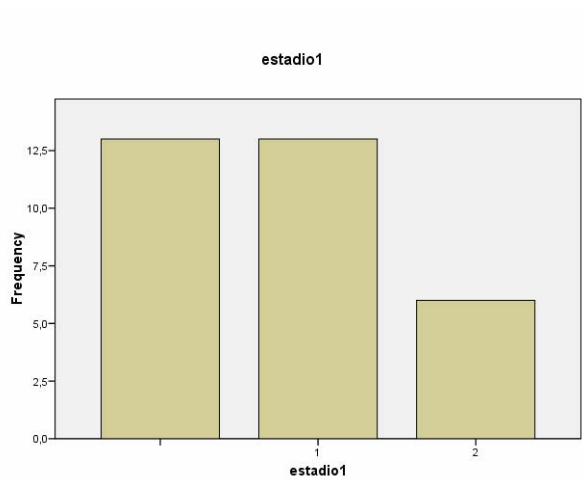


GRÁFICO 32: 1- no estadio I
2- estadio I

Tabla de frecuencia Número 31: Número de pacientes con carcinomas en estadio II

	Frecuencia	Porcentaje
	13	40,6
1	6	18,8
2	13	40,6
Total	32	100,0

1- No estadioII
2- Estadio II

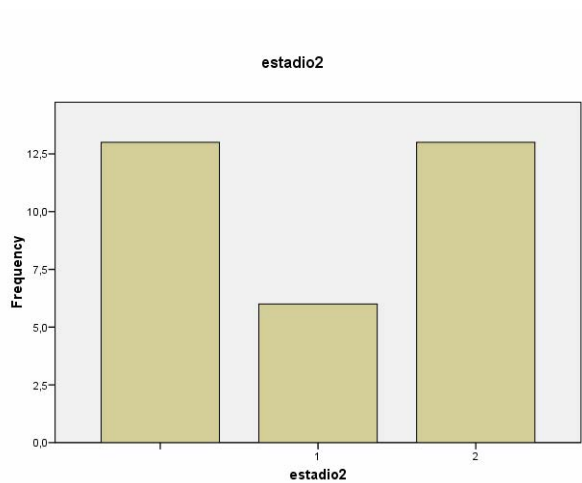


GRÁFICO 33: : 1- no estadio II
2- estadio II

G.2- Recidiva y tipo

A pesar del tratamiento administrado a todos los pacientes y tal como define a esta entidad, algunos pacientes recidivaron. De los 32 pacientes tratados, 26 pacientes (81'3 %) recidivaron y 6 pacientes (18'8%) estuvieron libres de enfermedad (tabla n°32).

Agrupamos el tipo de recidiva en tres variedades, 25 pacientes (78'1%) presentaron de nuevo lesiones de leucoplasia, 5 pacientes (15'6%) recidivaron en carcinomas verrugosos y finalmente 13 pacientes (40'6%) en carcinomas orales de células escamosas (tabla n°33).

Tabla Número 32: Número de pacientes con recidiva

	Frecuencia	Porcentaje
1	6	18,8
2	26	81,3
Total	32	100,0

1- No recidiva

2- Recidiva

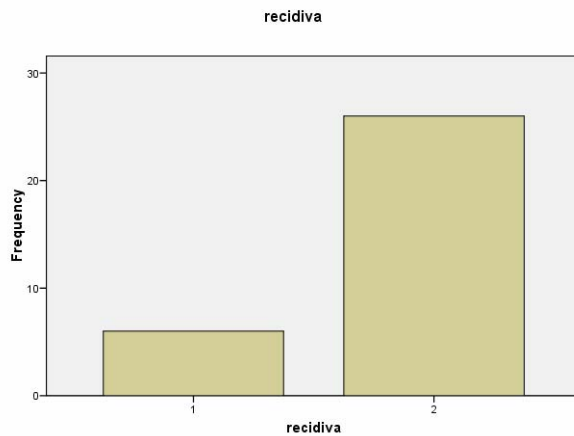


GRÁFICO 34: 1- no recidiva 2- recidiva

Tabla Número 33: Número de pacientes según el tipo de recidiva presentada

Tipo recidiva	Frecuencia	Porcentaje
Leucoplasia	25	78'1
Carcinoma verrugoso	5	15'6
Carcinoma oral de células escamosas	13	40'6

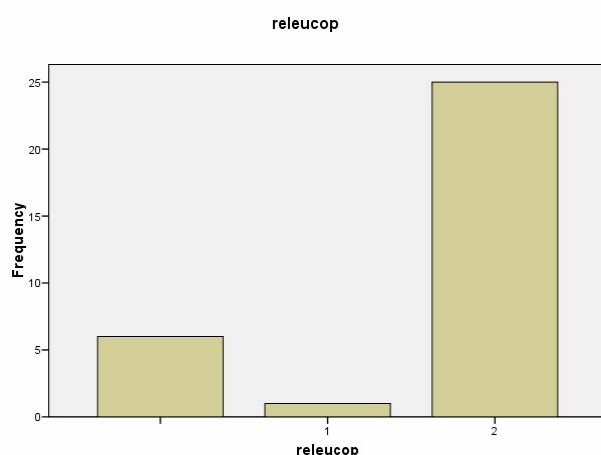


GRÁFICO 35: 1- no recidiva forma leucoplasia
2- recidiva forma leucoplasia

4- TRATAMIENTO

TRATAMIENTO DE LA LEUCOPLASIA

Todos los pacientes recibieron algún tipo de tratamiento para sus lesiones, algunos se trataron con cirugía, otros con radioterapia, otros con quimioterapia y otros con láser de CO2 (tabla n° 34).

Los resultados muestran que 16 pacientes (50%) fueron tratados con cirugía (gráfico n°36), ningún paciente fue tratado con radioterapia, 3 pacientes (9'4%) con quimioterapia y 23 pacientes (71'9%) con láser CO2.

Tabla Número 34: Número de pacientes según el tratamiento realizado en las lesiones de leucoplasia

Tipo tratamiento	Frecuencia	Porcentaje
Cirugía	16	50
Radioterapia	0	0
Quimioterapia	3	9'4
Láser CO2	23	71'9

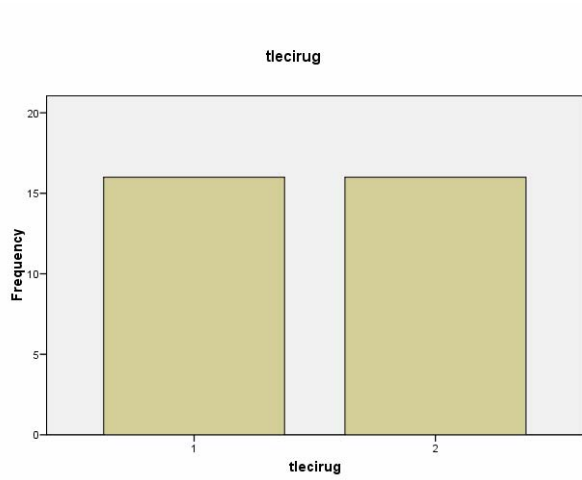


GRÁFICO 36: 1- no tratamiento de leucoplasia con cirugía
2- tratamiento de leucoplasia con cirugía



Figura 12: paciente de LVP al que se realizará la extirpación quirúrgica de la leucoplasia de fondo de vestíbulo

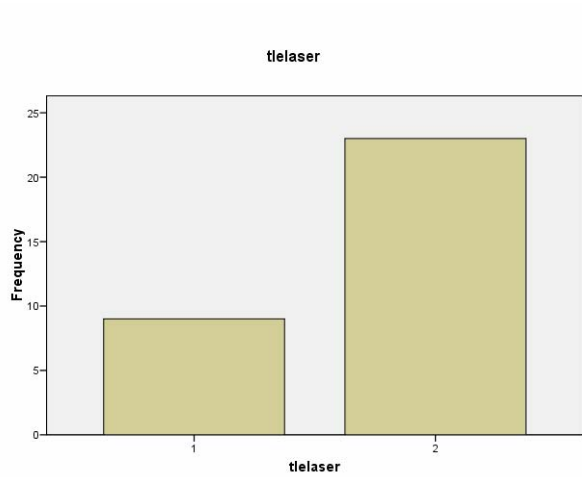


GRÁFICO 37: 1- no tratamiento leucoplasia con láser
2- tratamiento leucoplasia con láser

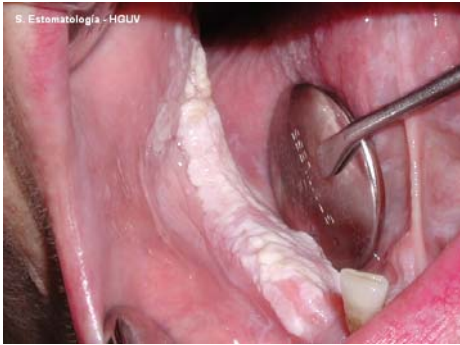


Figura 13: leucoplasia verrugosa en encía inferior



Figura 14: mismo paciente de Fig.13, tratamiento con vaporización con láser CO2



Figura 15: mismo paciente de Fig.13 y 14, recidiva en forma de leucoplasia tras el tratamiento en la misma localización de las lesiones iniciales

TRATAMIENTO DEL CARCINOMA

De los 19 pacientes de leucoplasia verrugosa proliferativa que desarrollaron carcinomas, todos recibieron tratamiento, ya fuera quirúrgico, radio o quimioterápico, o varios de ellos a la vez (tabla nº35).

La mayoría de estos pacientes recibieron únicamente tratamiento quirúrgico, 11 pacientes (34'4%), se trataron mediante resección quirúrgica de la tumoración y vaciamiento ganglionar cervical homolateral en aquellos casos que también lo necesitaron (gráfico nº38).

En cuanto al tratamiento combinado, 10 pacientes (30'3%) se trataron con cirugía y radioterapia (gráfico n°39) y 2 pacientes (9'1%) con cirugía, radio y quimioterapia combinadas.

Ningún paciente recibió tratamiento con radioterapia intraoral, braquiterapia.

Tabla Número 35: Número de pacientes según el tratamiento realizado en los carcinomas

Tipo tratamiento	Frecuencia	Porcentaje
Cirugía	11	34'4
Braquiterapia	0	0
Cirugía + Radioterapia	10	31'3
Cirugía + quimioterapia + radioterapia	2	6'3

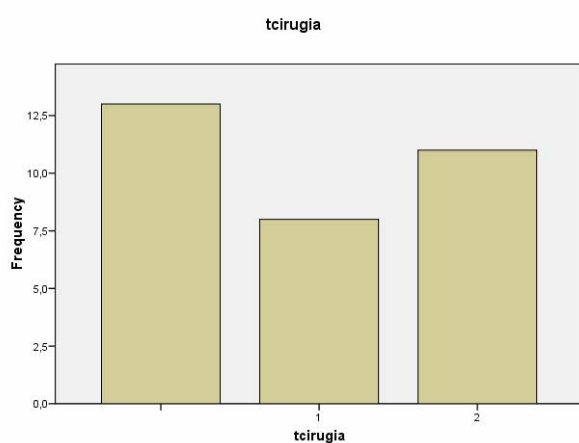


GRÁFICO 38: 1- no tratamiento COCE con cirugía
2- tratamiento COCE con cirugía

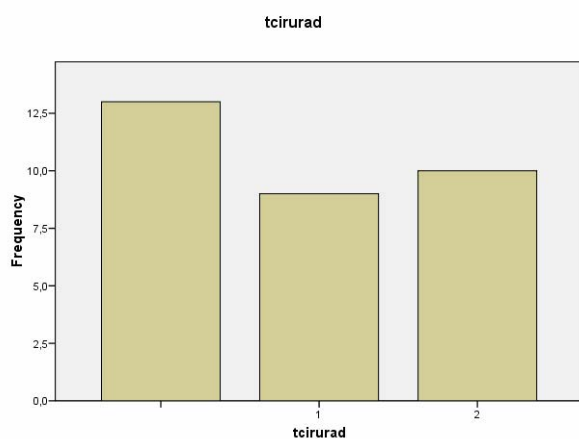


GRÁFICO 39: 1- no tratamiento COCE con cirugía + radioterapia
2- tratamiento COCE con cirugía+ radioterapia

RESULTADOS ANALÍTICOS ENTRE DIFERENTES VARIABLES

RELACIÓN ENTRE NÚMERO, TIPO CLÍNICO Y LOCALIZACIÓN DEL CARCINOMA

Quisimos estudiar cada carcinoma por separado, su tipo clínico y localización. Observamos que de los 19 pacientes (59'4%) que presentaron un primer carcinoma (tabla nº36), la localización más frecuente fue la encía inferior con 6 pacientes (18'8%), seguido en igual orden por la encía superior, el paladar duro, la mucosa yugal izquierda y la lengua cara ventral que la mostraron 3 pacientes (9'4%). En menor frecuencia encontramos la mucosa yugal derecha, en 1 paciente (3'1%) (tabla nº37).

El tipo clínico más frecuente, del primer carcinoma, fue la tumoración presentándola 10 pacientes (31'3%), seguido de la ulceración en 5 pacientes (15'6%) y finalmente la lesión mixta en 4 pacientes (12'5%) (tabla nº38).

Tabla Número 36: Número de pacientes con presencia de un primer carcinoma

		Frecuencia	Porcentaje
	1	13	40,6
	2	19	59,4
	Total	32	100,0

1- No carcinoma

2- Presencia de un primer carcinoma

Tabla Número 37: localización del primer carcinoma

		Frecuencia	Porcentaje
	1	3	9,4
	2	6	18,8
	3	3	9,4
	5	1	3,1
	6	3	9,4
	8	3	9,4
	Total	19	59,4
		13	40,6
Total		32	100,0

1- encía superior, 2- encía inferior, 3- paladar duro, 4- paladar blando, 5- m. yugal derecha, 6- m. yugal izquierda, 7- lengua dorsal, 8- lengua ventral, 9- labio superior, 10- labio inferior, 11- suelo boca, 12- pilar amigdalino

Tabla Número 38: tipo clínico del primer carcinoma

		Frecuencia	Porcentaje
	1	5	15,6
	2	10	31,3
	3	4	12,5
	Total	19	59,4
		13	40,6
Total		32	100,0

*1- ulceración
2- tumoración
3- mixta*

En el caso de los 13 pacientes (40'6%) que desarrollaron un segundo carcinoma (tabla nº39), 5 pacientes (15'6%) presentaron la lesión en encía inferior, 3 pacientes (9'4%) en encía superior y 2 pacientes (6'3%) en mucosa yugal derecha. Con la misma incidencia, 1 paciente (3'1%), observamos lesiones en suelo de boca, lengua cara dorsal y labio superior (tabla nº40).

El tipo clínico más frecuente fue la tumoración, al mostrarla 7 pacientes (21'9%), seguido de la ulceración en 5 pacientes (15'6%) y después 1 paciente (3'1%) en forma de lesión mixta (tabla nº41).

Tabla Número 39: Número de pacientes con presencia de un segundo carcinoma

		Frecuencia	Porcentaje
	1	19	59,4
	2	13	40,6
	Total	32	100,0

1- No carcinoma

2- Presencia de un segundo carcinoma

Tabla Número 40: localización del segundo carcinoma

		Frecuencia	Porcentaje
		19	59,4
	1	3	9,4
	11	1	3,1
	2	5	15,6
	5	2	6,3
	7	1	3,1
	9	1	3,1
	Total	32	100,0

1-encía superior, 2-encía inferior, 3- paladar duro ,4-paladar blando, 5-m.yugal derecha, 6- m.yugal izquierda, 7- lengua dorsal, 8- lengua ventral, 9- labio superior, 10-labio inferior, 11- suelo boca, 12- pilar amigdalino

Tabla Número 41: tipo clínico del segundo carcinoma

		Frecuencia	Porcentaje
		19	59,4
	1	5	15,6
	2	7	21,9
	3	1	3,1
	Total	32	100,0

1- ulceración

2- tumoración

3- mixta

De los 8 pacientes (25%) que evolucionaron a un tercer carcinoma (tabla n°42), encontramos con una incidencia de 2 pacientes (6'3%) en encía superior, encía inferior y paladar duro. En menor frecuencia, 1 paciente (3'1%), en paladar blando y lengua cara ventral (tabla n°43).

Cómo tipo clínico más frecuente fue la tumoración, presente en 6 pacientes (18'8%) y menos frecuente, en 1 paciente (3'1%), la ulceración y la forma mixta (tabla n° 44).

Tabla Número 42: Número de pacientes con presencia de un tercer carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
1	24	75,0
2	8	25,0
Total	32	100,0

1- No carcinoma

2-Presencia de un tercer carcinoma

Tabla Número 43: localización del tercer carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	24	75,0
1	2	6,3
2	2	6,3
3	2	6,3
4	1	3,1
8	1	3,1
Total	32	100,0

1-encía superior, 2-encía inferior, 3- paladar duro ,4-paladar blando, 5-m.yugal derecha, 6- m.yugal izquierda, 7- lengua dorsal, 8- lengua ventral, 9- labio superior, 10-labio inferior, 11- suelo boca, 12- pilar amigdalino

Tabla Número 44: tipo clínico del tercer carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	24	75,0
1	1	3,1
2	6	18,8
3	1	3,1
Total	32	100,0

1- ulceración

2- tumoración

3- mixta

En los 3 pacientes (9'4%) que desarrollaron el cuarto carcinoma (tabla nº45), hallamos en igual distribución, 1 paciente (3'1%), la encía superior, la inferior y el paladar blando (tabla nº46).

El tipo clínico más frecuente fue la tumoración, en 2 pacientes (6'3%) y la ulceración, en 1 paciente (3'1%) (tabla nº47).

Tabla Número 45: Número de pacientes con presencia de un cuarto carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
1	29	90,6
2	3	9,4
Total	32	100,0

1- No carcinoma

2- Presencia de un cuarto carcinoma

Tabla Número 46: localización del cuarto carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	29	90,6
1	1	3,1
2	1	3,1
4	1	3,1
Total	32	100,0

1-encía superior, 2-encía inferior, 3- paladar duro ,4-paladar blando, 5-m.yugal derecha, 6- m.yugal izquierda, 7- lengua dorsal, 8- lengua ventral, 9- labio superior, 10-labio inferior, 11- suelo boca, 12- pilar amigdalino

Tabla Número 47: tipo clínico del cuarto carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	29	90,6
1	1	3,1
2	2	6,3
Total	32	100,0

*1- ulceración
2- tumoración
3- mixta*

En el paciente que desarrolló un quinto carcinoma (3'1%) (tabla n°48), la localización fue la encía inferior (3'1%) (tabla n°49) y el tipo clínico la lesión mixta (3'1%) (tabla n° 50).

Tabla Número 48: Número de pacientes con presencia de un quinto carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
1	31	96,9
2	1	3,1
Total	32	100,0

*1- No carcinoma
2-Presencia de un quinto carcinoma*

Tabla Número 49: localización del quinto carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	31	96,9
2	1	3,1
Total	32	100,0

1-encía superior, 2-encía inferior, 3- paladar duro ,4-paladar blando, 5-m.yugal derecha, 6- m.yugal izquierda, 7- lengua dorsal, 8- lengua ventral, 9- labio superior, 10-labio inferior, 11- suelo boca, 12- pilar amigdalino

Tabla Número 50: tipo clínico del quinto carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	31	96,9
3	1	3,1
Total	32	100,0

*1- ulceración
2- tumoración
3- mixta*

El paciente que desarrolló un sexto carcinoma (3'1%) (tabla n°51), lo mostró en encía superior (3'1%) (tabla n°52) y el tipo clínico fue la ulceración (3'1%) (tabla n°53) .

Tabla Número 51: Número de pacientes con presencia de un sexto carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
1	31	96,9
2	1	3,1
Total	32	100,0

*1- No carcinoma
2-Presencia de un sexto carcinoma*

Tabla Número 52: localización del sexto carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	31	96,9
1	1	3,1
Total	32	100,0

1-encía superior, 2-encía inferior, 3- paladar duro ,4-paladar blando, 5-m.yugal derecha, 6- m.yugal izquierda, 7- lengua dorsal, 8- lengua ventral, 9- labio superior, 10-labio inferior, 11- suelo boca, 12- pilar amigdalino

Tabla Número 53: tipo clínico del sexto carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	31	96,9
1	1	3,1
Total	32	100,0

*1- ulceración
2- tumoración
3- mixta*

En el paciente que evolucionó hacia un séptimo carcinoma (3'1%) (tabla n°54), la localización de la lesión era el pilar amigdalino (3'1%) (tabla n°55) y el tipo clínico la ulceración (3'1%) (tabla n°56).

Tabla Número 54: Número de pacientes con presencia de un séptimo carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
1	31	96,9
2	1	3,1
Total	32	100,0

*1- No carcinoma
2-Presencia de un séptimo carcinoma*

Tabla Número 55: localización del séptimo carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	31	96,9
12	1	3,1
Total	32	100,0

1-encía superior, 2-encía inferior, 3- paladar duro ,4-paladar blando, 5-m.yugal derecha, 6- m.yugal izquierda, 7- lengua dorsal, 8- lengua ventral, 9- labio superior, 10-labio inferior, 11- suelo boca, 12- pilar amigdalino

Tabla Número 56: tipo clínico del séptimo carcinoma

	Frecuencia	Porcentaje
	31	96,9
1	1	3,1
Total	32	100,0

*1- ulceración
2- tumoración
3- mixta*

DISCUSIÓN

La leucoplasia verrugosa proliferativa, se considera una entidad distinta dentro de las leucoplasias orales, tanto por sus características clínicopatológicas cómo por su especial agresividad. Tal y como se describió en su origen, en 1985 por Hansen (7), los pacientes presentan inicialmente placas blancas, hiperqueratósicas, que persisten, aumentan de tamaño progresivamente hasta convertirse en lesiones de apariencia exofítica y multifocales, transformándose en una alta proporción en carcinomas.

La edad de aparición de esta enfermedad varía poco según los autores, así Hansen (7) al definirla por primera vez, describe un rango de edad comprendido entre los 36 y los 90 años y una edad media de 70 años. Silverman y Gorsky (41) un poco más tarde describen una edad media un poco menor, de unos 62 años. Bagán y col (44) coinciden con la edad descrita inicialmente.

En nuestro estudio realizado en 32 pacientes de LVP, la edad mínima de presentación de la enfermedad fue de 46 años y la máxima de 96. La edad media encontrada en nuestros pacientes se acercó a la edad media del estudio inicial, nuestra edad media fue de 73 años. La desviación standard de 12'6 y el error standard de 2'2.

Todos los autores coinciden en señalar una relación mujeres/hombres con claro predominio de las mujeres, mostrando ratios de 4:1 (41) o de una proporción de un 80% frente a un 20% (44). De los 32 pacientes que estudiamos, 25 eran mujeres y 7 hombres. De esta forma volvemos a encontrar resultados similares a los descritos anteriormente, acercándonos a las proporciones de otros autores, un 78% de mujeres y un 22% de hombres. La epidemiología hallada en nuestro estudio coincide con la literatura al respecto.

No se conoce un factor etiológico único responsable de la LVP aunque si se han relacionado muchos posibles causas, por lo que se considera que el origen es multifactorial. Nosotros hemos estudiado uno de los factores que está más implicado en el desarrollo de la leucoplasia oral pero que no muestra ser un claro factor causal en el caso de LVP, el tabaco. A pesar de que en algunos artículos iniciales (42), se publicaba mayor número de casos de LVP en fumadores, posteriormente se muestran otros estudios donde la proporción de pacientes no fumadores es de un 69% (41) y otros donde la prevalencia de fumadores es menor del 23% (44).

De los 32 pacientes del estudio, 23 eran no fumadores y 9 pacientes eran fumadores, existía una proporción de un 75% de no fumadores respecto al 25% de fumadores. La cantidad mínima de cigarrillos fumados era de 0, la máxima de 25 y la media fue de unos 3'69 cigarrillos al día. Los pacientes fumadores fueron divididos en varios grupos según la cantidad de cigarrillos fumados al día. De los 9 pacientes fumadores, 1 fumaba una media de 5 cigarrillos al día (de 0 a 10 cig/día), 6 pacientes fumaban una media de 15 cigarrillos al día (10-20 cig/día) y 1 paciente una media de 25 cigarrillos al día (>20 cig/día). Dentro del grupo de los fumadores había un paciente que fumaba 2 puros al día pero no fumaba cigarrillos. Los resultados del estudio se acercaron a los descritos en otros estudios, no se puede hablar de que el tabaco juegue un papel claramente responsable en la etiología de la LVP.

En la posible etiología de la LVP se ha sugerido la probable relación con el Virus Papiloma Humano (45, 46, 48), pero la literatura no describe ninguna relación entre los virus de la hepatitis y la LVP. Nosotros quisimos estudiar la relación de estos virus, en concreto el de la hepatitis B y el C, pero tampoco encontramos una relación, únicamente un paciente estaba infectado por el virus de la hepatitis B (3'1%) y dos pacientes por el virus de la hepatitis C (6'3%).

Los pacientes de LVP, cuando acuden a la consulta del médico o del odontólogo, describen una historia de lesiones leucoplásicas de varios años de evolución. Las lesiones en estadio iniciales suelen ser asintomáticas o provocan molestias inespecíficas pero en los estadios más avanzados cuando se han extendido por toda la mucosa oral o han desarrollado zonas de carcinoma oral de células escamosas, pueden referir dolor. Al preguntar a nuestros pacientes, 21 (65'6%) no referían dolor y 11 (34'4%) pacientes sí referían dolor, estos resultados podrían atribuirse a que muchos de los pacientes acuden a nuestro Servicio en los estadios iniciales de la enfermedad, cuando encontramos lesiones leucoplásicas iniciales que no producen sintomatología.

Si hablamos de la localización preferente, la LVP se caracteriza por ser una enfermedad multifocal, aunque inicialmente los lugares más frecuentes sean las mucosas yugales, seguido del paladar duro y blando o la mucosa alveolar, en su progresión llega a afectar múltiples localizaciones. Silverman y col (41) en su estudio señalan que las lesiones aparecen mayoritariamente en mucosa yugal en mujeres y en lengua en hombres. Zakrzewska y col (42) y Bagán y col (44) en sus estudios coinciden al encontrar en más frecuencia la encía alveolar, seguida de la mucosa yugal y la lengua. Nuestros resultados coincidieron con estos dos últimos autores. Encontramos que la zona de mayor aparición fue también la mucosa de encía alveolar, 26 de nuestros pacientes (81'3%) mostraban lesiones en mucosa alveolar inferior y 23 pacientes (71'9%) en mucosa de encía superior. La mucosa yugal fue la siguiente localización más frecuente, 19 pacientes (59'4%) tenían lesiones en mucosa yugal derecha y 17 pacientes (53'1%) en mucosa yugal izquierda. Por orden decreciente de

frecuencia encontramos el resto de localizaciones, paladar duro, cara ventral de lengua, suelo de boca, labio inferior, cara dorsal de lengua, labio superior y paladar blando.

Esta entidad se inicia con una lesión con características de placa blanca simple hiperqueratósica, que se va extendiendo, cambian a un aspecto más verrugoso, son lesiones de leucoplasia verrugosa que muestran también áreas eritematosas y que microscópicamente pueden ser un carcinoma verrugoso o un carcinoma de células escamosas (7,42). En los 32 pacientes que estudiamos, encontramos todo los tipos clínicos característicos de la enfermedad, así 29 pacientes (90'6%) mostraron lesiones de leucoplasia homogénea, 29 pacientes (90'6%) lesiones de leucoplasia verrugosa y 18 (56'3%) eritroplasias. También estudiamos la presencia de otras lesiones mucosas, como las manchas melánicas, estando presentes únicamente en 4 pacientes (12'5%).

La variabilidad en el aspecto clínico de las lesiones de la LVP, también se presenta en los diferentes diagnósticos histológicos. Las lesiones pueden corresponder desde hiperqueratosis, a diferentes grados de displasia hasta a un carcinoma verrugoso o a un carcinoma de células escamosas convencional o papilar. Estas histologías pueden coincidir varias a la vez en un mismo paciente o bien que se evolucione de un diagnóstico a otro a lo largo del tiempo. Nosotros también hallamos todas estas histologías en nuestros pacientes. En 24 pacientes (75%) encontramos hiperqueratosis, en 14 pacientes (43'8) diferentes grados de displasia, en 11 carcinomas verrugosos (34'4%) y en 19 carcinomas orales de células escamosas (59'4%).

El diagnóstico de la LVP suele realizarse de forma retrospectiva, en base a la clínica y la evolución. Las lesiones van evolucionando desde formas queratósicas, indistinguibles de las leucoplasias tratables, a otras exofíticas y multifocales a lo largo

del tiempo (7). Es prácticamente imposible el reconocimiento de la enfermedad en estadios iniciales, estableciendo el diagnóstico meses o incluso años después de estar visitando a los pacientes, por esta razón es muy importante su seguimiento periódico. Los pacientes que analizamos se siguieron un mínimo de 12 meses y un máximo de 144 meses, con una media de 83'34 meses.

La LVP se caracteriza por ser resistente a los diferentes tratamientos pero a pesar de eso nunca se deberían de dejar de tratar las lesiones, en especial aquellas lesiones con una histología de displasia y por supuesto de carcinoma.

Esta recomendado realizar estudios anatomopatológicos tanto al inicio como a lo largo de su evolución. En nuestro caso se realizaron biopsias a todos los pacientes, se efectuaron una media de 3'41 biopsias por paciente. El número mínimo de biopsias practicadas fueron 1 y el máximo 8.

Cuando las lesiones no presentan signos de displasia y su extirpación completa es difícil ya sea por su extensión o por la localización anatómica, la vaporización con láser con CO2 es un terapia recomendada (76). Muchos autores recomiendan el tratamiento quirúrgico (41, 42, 75) con la completa extirpación de la lesión si es posible para el estudio anatomopatológico posterior tantas veces cómo sea necesario, debido a que la LVP presenta una alta tendencia a desarrollar carcinomas, incluso algunos autores (59) recomiendan tratamientos agresivos o resecciones en bloque. Nuestros pacientes recibieron diferentes tratamientos tras realizarles la biopsia, el tratamiento que más se utilizó fue la vaporización con láser CO2 en un total de 23 pacientes (71'9%), en 16 pacientes (50%) se practicó la extirpación de la lesión con cirugía y en 3 pacientes (9'4%) se les aplicó un agente quimioterápico local.

La agresividad de la LVP está relacionada por su alta tendencia a recidivar tras el tratamiento, pero especialmente por la elevada incidencia de carcinomas que pueden presentarse a lo largo de su evolución. Cuando examinamos las posibles recidivas en nuestro grupo de pacientes, observamos que realmente la tasa de recidiva de lesiones y la incidencia de carcinomas se cumplía, 26 pacientes (81'3%) desarrollaron nuevas lesiones, 25 pacientes (78'1%) mostraron de nuevo leucoplasias, 13 (40'6%) recidivaron con carcinomas escamosos y 5 pacientes (15'6%) presentaron carcinomas verrugosos (15'6%).

Silverman y Gorsky (41) en sus estudios encontraron que un 70'3% de sus pacientes desarrollaban algún carcinoma en el lugar de la LVP, Bagán y col (44) mostraron una proporción similar, un 63'3% de carcinomas orales de células escamosas y un 26'7% de carcinoma verrugoso tras un seguimiento de 4'7 años, además de manifestar la alta proporción de cancerización de campo que existe en estos pacientes, de 19 pacientes de LVP, 10 desarrollaron más de un carcinoma, incluso un paciente presentó cinco tumores (80). Así también se reflejó en nuestro estudio, la media de carcinomas presentados fue de 1'38, el valor mínimo fue de 0 carcinomas y el valor máximo de 7. Hay que destacar que únicamente un paciente llegó a desarrollar hasta 7 carcinomas en su evolución. De los 32 pacientes estudiados, 19 (59'4%) mostraron cómo mínimo un carcinoma, 2 de ellos lo presentaban ya en su primera visita y no volvieron a desarrollar ningún otro carcinoma, y 11 pacientes (34'4%) desarrollaron un carcinoma verrugoso, 3 de ellos lo presentaban en su primera visita y no evolucionaron a ninguna otra forma de carcinoma en su evolución.

El tiempo medio en desarrollar el primer carcinoma fue de 17'05 meses, cómo se ha comentado el mínimo fue de 0 meses, en la primera visita y el máximo 72 meses. En el caso de los 13 pacientes (40'6%) que presentaron un segundo tumor, el tiempo medio

transcurrido entre la aparición del primer carcinoma y el segundo fue de 23'31 meses. El tiempo mínimo fue de 0 meses, es decir en un paciente en la primera visita simultáneamente se diagnosticaron dos tumores primarios. El tiempo máximo en desarrollar el segundo tumor fue de 60 meses. En 8 pacientes (25%) se evolucionó a un tercer carcinoma, transcurriendo un tiempo medio de 21 meses respecto a la aparición del segundo carcinoma, el tiempo mínimo fue de 2 meses y el máximo de 48 meses. El tiempo medio en la evolución a un cuarto carcinoma fue de 7 meses, 2 meses como mínimo y 12 meses como máximo. El paciente (3'1%) que mostró un quinto, sexto y séptimo carcinoma tardó 12 meses en desarrollar el quinto, 3 meses en el sexto y finalmente 3 meses en recidivar en un séptimo carcinoma.

Los diferentes autores (41,44) sugieren que la localización más frecuente de los carcinomas desarrollados por estos pacientes es la encía, a diferencia de las localizaciones típicas del carcinoma oral convencional como el suelo de la boca y la lengua (80). Nuestros datos coinciden con la literatura, la localización más frecuente fue la encía inferior presente en 10 pacientes (31'3%), seguida de la encía superior y paladar duro en 6 pacientes (18'8%). El suelo de la boca y la lengua presentaban una baja frecuencia, 1 (3'1%) y 2 (6'3) pacientes respectivamente. En 10 pacientes (31'3%) la forma clínica del carcinoma era una lesión ulcerada, en otros 10 (31'3%) fue en forma de tumoración o lesión exofítica y en 4 pacientes (12'5%) mixta.

Hansen (7) refiere que el índice de mortalidad es muy alto en estos pacientes, pero otros autores como Bagán y col (80) indican que los carcinomas desarrollados son menos agresivos, así en un estudio realizado sobre pacientes de LVP, de los 10 pacientes que desarrollaron más de un carcinoma, el estadiaje TNM no fue mayor de

estadio 2 ni el tamaño de los tumores mayor a 2'5 cm. En nuestro estudio de los 19 pacientes con carcinoma oral de células escamosas, 6 pacientes (18'8%) fueron clasificados dentro del estadio 1 y 13 pacientes (40'6%) en el estadio 2. Al clasificar también estos carcinomas según el tamaño, 8 (25%) de los 19 pacientes tenían un tamaño no mayor de 2'5 cm, 5 pacientes (15'6%) un tamaño no mayor a 1'5cm, 5 pacientes (15'6%) presentaron un tamaño no mayor a 3'5 cm y un paciente (3'1%) mostró un tumor de 0'5 cm. Nuestro grupo mayoritario de carcinomas tenía un tamaño similar al del estudio presentado por Bagán y col (80) aunque también encontramos pacientes con un tamaño mayor.

Al hablar de la agresividad de la LVP uno de los factores de mayor riesgo es la alta incidencia en desarrollar carcinomas orales de células escamosas, incluso más de un 50% de los pacientes que desarrollan un carcinoma posteriormente desarrollaran tumores segundos primarios en otras zonas de la cavidad oral (80). El tratamiento del cáncer puede ser quirúrgico, quimio o radioterápico o combinando varias de estas estrategias terapéuticas. Nosotros utilizamos todos los tratamientos descritos, dependiendo del tamaño o localización del tumor y algunos pacientes recibieron varios de los tratamientos al desarrollar varios carcinomas. El tratamiento más indicado fue el tratamiento quirúrgico en 11 ocasiones (34'4%), seguido del tratamiento combinado de cirugía y radioterapia en 10 ocasiones (31'3%) y únicamente 2 tumores (6'3%) fueron tratados con cirugía, quimio y radioterapia combinadas.

Una vez analizados varios factores relacionados con la aparición de carcinomas en la LVP, tales como el número de carcinomas desarrollados, la localización y el tipo clínico, quisimos estudiar la relación entre ellos. Observamos que de los 19 pacientes

(59'4%) que presentaron un primer carcinoma oral de células escamosas, la localización más frecuente en este primer carcinoma fue la encía inferior, 6 pacientes (18'8%) coincidiendo con la localización más usual al analizar todos los carcinomas en conjunto. El tipo clínico en estos pacientes que predominaba era claramente la tumoración, en 10 pacientes (31'3%). En el grupo de los 13 pacientes (40'6%) con un segundo carcinoma, la localización más usual fue también la encía inferior, en 5 pacientes pero ya no existía tanta diferencia con otras localizaciones como la encía superior o la mucosa yugal. El tipo clínico que prevalecía era la tumoración en 7 pacientes (21'9%) seguido de la ulceración en 5 pacientes (15'6%). Al progresar en el número de aparición del carcinoma, las localizaciones y los tipos clínicos se distribuían por igual en número de frecuencia, así en los 8 pacientes (25%) con tercer carcinoma se presentó por igual en encía superior, inferior y paladar duro, en 2 pacientes (6'3%) seguido del paladar blando y dorso de lengua. El tipo clínico más habitual volvió a ser la tumoración, en 6 pacientes (18'8%). La localización de los 3 pacientes (9'4%) con presencia de un cuarto carcinoma se repartió por igual entre la encía superior, la inferior y el paladar blando (3'1%), en 2 pacientes (6'8%) el tipo clínico fue la tumoración y en el otro la ulceración (3'1%). En el caso del paciente que evolucionó a un quinto, sexto y séptimo carcinoma, los carcinomas se localizaron en encía inferior, encía superior y pilar amigdalino respectivamente y el tipo clínico mostrado era la ulceración.

En algunos estudios se ha demostrado la cancerización de campo existente en la LVP (80). Este aspecto junto a la alta tendencia a recurrir tras el tratamiento que presenta las lesiones y el intervalo de tiempo corto entre la presencia de los tumores hace pensar en la hipótesis de un agente infeccioso como agente causal.

El virus papiloma humano se ha implicado en la patogenia de varias leucoplasias, incluso en la leucoplasia verrugosa proliferativa, al relacionarse con algunas mutaciones cromosómicas (46), en especial con los subtipos HPV 16 y HPV 18 (45,57). Palefsky y col (45) encontró en un estudio que el 89% de sus pacientes mediante la técnica de PCR eran positivos al HVP, y la mayoría de ellos al HVP 16. Gopalakrishnan y col (57) identificaron los subtipos HVP 16 y HVP 18 en 2 de sus 8 muestras positivas a la p-53. También se ha asociado la presencia del virus con algunos carcinomas orales, especialmente en tumores del área orofaríngea (83).

Sin embargo otros autores no han podido demostrar esta relación, Fettig (59) no pudo detectar HVP utilizando la técnica del PCR, una técnica sensible, en sus pacientes con lesiones de LVP en encía y Campisi (47) no encontró más relación con la infección por HVP en los pacientes con LVP que aquellos pacientes con lesiones convencionales de leucoplasia, al comparar 58 casos de LVP con 90 casos de otras leucoplasias, utilizando también la técnica de PCR.

Nuestros resultados no han demostrado una asociación consistente entre la LVP y el HVP. De los 13 pacientes estudiados, ni en las 10 muestras de tejido congelado ni en los 4 enjuagues orales se detectó el virus, a pesar de haberse demostrado previamente la utilidad de esta prueba en otros estudios (84). En las 2 muestras con presencia de carcinoma oral de células escamosas tampoco se detectó el virus.

El virus de Epstein-Barr (VEB), se ha implicado en una variedad grande de tumores, incluso algunos artículos lo relacionan con su etiología (49). Tras la infección inicial, el virus permanece en las células orales epiteliales y suele replicarse en ellas. (50). Esta probado que el VEB es un agente etiológico en el carcinoma nasofaríngeo, está asociado a la leucoplasia oral vellosa, con enfermedades con linfomas de células B y con el carcinoma linfoepitelial. Muchos autores han estudiado la posible

implicación del virus en el carcinoma oral de células escamosas pero los resultados son controvertidos (51,52), Higa y col (51) encontraron muchas infecciones por VEB en sus casos de COCE pero otros autores (50,55) no han podido hallar infección por el virus.

Nosotros en este caso estudiamos 20 pacientes, estableciendo 3 subgrupos a los que analizamos sus biopsias. El primer subgrupo lo formaban 10 pacientes de LVP (formaban parte de nuestro grupo de 32 pacientes del estudio), un subgrupo 2 formado por 5 pacientes con carcinoma oral de células escamosas y sin antecedentes de lesiones de LVP y el tercer subgrupo de 5 pacientes que presentaban una mucosa totalmente normal. Detectamos VEB en un alto porcentaje de pacientes con LVP, un 60%, subiendo la proporción a un 66'6% en aquellos pacientes de LVP que presentaban un carcinoma. Si lo comparamos con el subgrupo 2, que presentaban VEB en una proporción de un 40%, la diferencia es importante y todavía más con los pacientes del subgrupo 3, donde no se halló ninguna muestra con el virus.

Pero no podemos decir que existe una evidencia del papel directo entre la infección por el virus y la etiología de la enfermedad, porque hemos estudiado un grupo pequeño de muestras y porque nos encontramos ante un epitelio con múltiples alteraciones durante un largo periodo de tiempo.

CONCLUSIONES

Tras estudiar las características clínicas, etiológicas y evolutivas de 32 pacientes afectados de leucoplasia verrugosa proliferativa, llegamos a las siguientes conclusiones:

1º- Clínicamente es una entidad más frecuente en mujeres, no fumadoras, con una edad media de 70 años. Se caracteriza por ser una enfermedad multifocal, encontrando que la localización preferente es la encía alveolar.

2º- La agresividad está relacionada con una alta tendencia a recidivar tras el tratamiento y con una elevada incidencia de carcinomas. El 60% de los pacientes presentaron como mínimo un carcinoma, la encía fue la localización más frecuente en los carcinomas desarrollados.

3º- Los pacientes con carcinoma pueden desarrollar varios carcinomas a lo largo de su evolución, destacando hasta la presencia de 7 carcinomas en un paciente. Esto manifiesta la alta proporción de cancerización de campo que existe en estos pacientes.

4º- El Virus Papiloma Humano se ha implicado en la patogenia de la leucoplasia y la leucoplasia verrugosa proliferativa pero nuestros resultados no han demostrado una asociación consistente entre la LVP y el Virus Papiloma Humano.

5°- Detectamos Virus de Epstein-Barr en un alto porcentaje de pacientes de LVP, subiendo el porcentaje en aquellos pacientes que presentaron un carcinoma. El virus puede jugar un papel en la etiología de la enfermedad pero no podemos decir que existe una evidencia de la relación directa entre la infección y la etiología de la leucoplasia verrugosa proliferativa.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- 1- WHO Collaborating center for Oral Precancerous lesions. Definition of leukoplakia and related lesions: An aid to studies on oral precancer. *Oral Surg* 1978;46:518-39.
- 2- Scully C. Precancerous lesions of the oral mucosa. En: *Symposium of Oral Medicina*; 1993 Nov 26-28; London.
- 3- Schwimmer E. Die idiopathischen Schleimhautplaques der Mundhöhle : Leucoplakia buccalis. *Vjschr Dermatol Syphilol* 1877;4:511-57.
- 4- 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;12:145-54.
- 5- Bagán JV, Vera F, Milián MA, Peñarrocha M, Silvestre FJ, Sanchis JM. Leucoplasia oral: estudio clínico-patológico de 110 casos. *Arch Odontoestomatol* 1993;9:127-38.
- 6- Axell T, Pindborg JJ, Smith CJ, Van der Waal I and an 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.
- 7- Hansen LS, Olson JA, Silverman S. Proliferative Verrucous leukoplakia : a long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985;60:285-98.
- 8- Gangadharan P, Paymaster JC. Leukoplakia, an epidemiologic study of 1.504 cases observed at the Tata Memorial Hospital, Bombay, India. *Br J Cancer* 1971;25:657-68.
- 9- Knapp MJ. Oral disease in 181.338 consecutive oral examinations. *J Am Dent Assoc* 1971;83:1288-93.
- 10- Bouquot JE, Gorlin RJ. Leukoplakia, lichen planus, and other oral keratoses in 23616 white Americans over the age of 35 years. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986;61:373-81.

- 11- Axell T. Occurrence of leukoplakia and some other oral white lesions among 20.333 adult Swedish people. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987;15:46-51.
- 12- Bagán JV, Peydró A, Vera-Sempere F. Leucoplasia bucal. Estudio clínico de 33 pacientes. *Revista Española de Estomatología* 1985;33:195-204.
- 13- Van de Waal I, Bánóczy J, Axell T, et al. Diagnostic and therapeutic problems of oral precancerous lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1986;15:790-8.
- 14- González Moles MA, Ruiz Avila I, Giner Martínez M, Ceballos A. Consideraciones sobre las implicaciones pronósticas de los papilomavirus humanos en leucoplasias orales. *Avances en Odontoestomatología* 1993;9:473-6.
- 15- Miller CS, White DK. Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma. A retrospective review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1996;82:57-68.
- 16- Cawson RA. Chronic oral candidiasis and leukoplakia. *Oral Surg* 1966;22:582-91.
- 17- Bagán JV. Lesiones y estados precancerosos de la mucosa oral. En: Bagán JV, Ceballos A, Bermejo F, Aguirre JM, Peñarrocha M, eds. *Medicina oral*. Barcelona: Masson S.A.; 1995. p. 166-74.
- 18- Damm DD, Curran A, White DK, Drummond JF. Leukoplakia of the maxillary vestibule-an association with Viadent?. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1999;87:61-6.
- 19- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in Biology and Medicine*. End cd. Oxford: Clarendon, 1989.
- 20- Du X, Squier CA, Kremer MJ, Werrz PW. Penetration of N- nitrosornicotine (NNN) across oral mucosa in the presence of ethanol and nicotine. *J Oral Pathol* 2000;29:80-5.
- 21- Zain RB. Cultural and dietary risk factors of oral cancer and precancer- a brief overview. *Oral Oncology* 2001;37:205-10.

- 22- Cowan CG, Calwell EL, Young IS, Mckillop DJ, Lamcy PJ. Antioxidant status of oral tissue and plasma levels in smokers and non-smokers. *J Oral Pathol Med* 1999;28:360-3.
- 23- Abdel-Salam M, Mayall Bh, Chew K, Silverman S, Greenspan JS. Which oral white lesions will become malignant? An image cytometric study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;69:345-50.
- 24- Kahn MA, Mincer HH, Dockter ME, Hermann-Petrin JM. Comparing flow cytometric analysis and nucleolar organizer region enumeration in archival oral premalignant lesions. *J Oral Pathol Med* 1993;22:257-62.
- 25- Saku T, Sato E. Prediction of malignant change in oral precancerous lesions by DNA cytofluorometry. *J Oral Pathol* 1983;12:90-102.
- 26- Heyden A, Huitfeldt HS, Koppang HS, Thrane PS, Bryne M, Brandtzaeg P. Cytokeratins as epithelial differentiation markers in premalignant and malignant oral lesions. *J Oral Pathol Med* 1992;21:7-11.
- 27- Scully C, El-Kom M. Lichen planus: review and update on pathogenesis. *J Oral Pathol* 1985;14:431-58.
- 28- Eisenberg E, Krutchkoff DJ. Lichenoid lesions of oral mucosa. Diagnostic criteria and their importance in the alleged relationship to oral cancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;73:699-704.
- 29- Haya MC, Bagán JV, Basterra J, Lloria E. Prevalencia de liquen plano oral y leucoplasia oral en 112 pacientes con carcinoma oral de células escamosas. *Acta Otorrinolaring Esp* 2001;52:239-43.
- 30- Milián MA, Bagán JV, Lloria E, Cardona F, Solano J. Lupus eritematoso sistémico. Presentación de un caso clínico en el que las lesiones orales fueron la primera manifestación y el indicador del rápido desenlace fatal del enfermo. *Medicina Oral* 1996;1:54-7.

- 31- Bermejo A. Enfermedades inflamatorias del tejido conectivo. En Bagán JV, Ceballos A, Bermejo A, Aguirre JM, Peñarrocha M. Medicina Oral. Barcelona: Masson, S.A.; 1995. p. 41-53.
- 32- Blanco A, Gallas MM, Gándara JM, García A, Antúnez J. Lupus eritematoso discoide con gingivitis descamativa crónica. Presentación de un caso clínico con histopatología e inmunofluorescencia. Medicina Oral 2000;5:231-7.
- 33- Terrinoni A, Candi E, Oddi S, Gobello T, Camaione DB, Mazzanti C, et al. A glutamine insertion in the Alpha helical domain of the keratin 4 gene in a familial case of white sponge nevus. J Invest Dermatol 2000;114:388-91.
- 34- Terrinoni A, Rugg EL, Lane EB, Melino G, Felix DH, Munro CS, et al. A novel mutation in the keratin 13 gene causing oral white sponge nevus. J Dent Res 2001;80:919-23.
- 35- Cox MF, Eveson J, Porter SR, Maitland N, Scully C. Human papillomavirus type 16 DNA in oral white sponge nevus. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1992;73:476-8.
- 36- Sánchez P, Manchado P, Rodríguez MA, Ruiz I, Martínez M. Lesiones blanquecinas en la mucosa oral. An Esp Pediatr 2001;55:159-60.
- 37- Van der Waal I, Schepman KP, Van der Meij EH, Smeele LE. Oral leukoplakia: a clinicopathological review. Oral Oncology 1997;33:291-301.
- 38- Thomson PJ, Wylie J. Interventional laser surgery: an effective surgical and diagnostic tool in oral precancer management. Int J Oral Maxillofac Surg 2002;31:145-153.
- 39- Fan KFM, Hopper C, Speight PM, Buonaccorsi G, MacRobert AJ, Bown SG. Photodynamic therapy using 5- Aminolevulinic Acid for premalignant and malignant lesions of the oral cavity. Cancer 1996;78:1374-83.
- 40- Girod SC, Pfahl M. Retinoid actions and implications for prevention and therapy of oral cancer. Int J Oral Maxillofac Surg 1996;25:69-73.

- 41- Silverman S, Gorsky M. Proliferative verrucous leukoplakia: a follow-up study of 54 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1997;84:154-7.
- 42- Zakrzewska JM, Lopes V, Speight P, Hopper C. Proliferative verrucous leukoplakia: a report of ten cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1996;82:396-401.
- 43- Eversole LR. Case 6: proliferative verrucous leukoplakia. *J Calif Dent Assoc* 1997;25(8):569-78.
- 44- 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;32:379-82.
- 45- Palefsky JM, Silverman JrS, Abdel-Salaam M, Daniels TE, Greenspan JS. Association between proliferative verrucous leukoplakia and infection with human papillomavirus type 16. *J Oral Pathol Med* 1995;24:193-7.
- 46- Eversole LR. Papillary lesions of the oral cavity: relationship to human papillomaviruses. *J Calif Dent Assoc* 2000;28(12):922-7.
- 47- Campisi G, Giovanelli L, Ammatuna P, Capra G, Colella G, Di Liberto C, et al. Proliferative verrucous vs conventional leukoplakia: no significantly increased risk of HPV infection. *Oral Oncology* 2004;40(8):835-40.
- 48- Bagán JV, Jiménez 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;65:46-9
- 49- Flaitz CM, Hicks MJ. Molecular piracy: the viral link to carcinogenesis. *Oral Oncology* 1998;34(6):448-53.
- 50- Shimakage M, Horii K, Tempaku A, Kakudo K, Shirasaka T, Sasagawa T. Association of Epstein-Barr virus with oral cancers. *Hum Pathol* 2002;33(6):608-14.

- 51- Higa M , Kinjo T, Kamiyama K, Chinen K, Iwamasa T, Arasaki A, et al. Epstein-Barr virus (EBV)-related oral squamous cell carcinoma in Okinawa, a subtropical island, in southern Japan—simultaneously infected with human papillomavirus (HPV). *Oral Oncology* 2003;39(4):405-14.
- 52- Gonzalez-Moles MA, Gutierrez J, Rodriguez MJ, Ruiz-Avila I, Rodriguez-Archilla A. Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP-1) expression in oral squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2002;112(3):482-7.
- 53- Anwar M, Koriyama C, Naveed IA, Hamid S, Ahmad M, Itoh T, et al. Epstein-Barr virus detection in tumors of upper gastrointestinal tract. An in situ hybridization study in Pakistan. *J Exp Clin Cancer Res* 2005;24(3):379-85.
- 54- Goldenberg D, Benoit NE, Begum S, Westra WH, Cohen Y, Koch WM, et al. Epstein-Barr virus in head and neck cancer assessed by quantitative polymerase chain reaction. *Laryngoscope* 2004;114(6):1027-31.
- 55- Yang YY, Koh LW, Tsai JH, Tsai CH, Wong EF, Lin SJ, et al. Involvement of viral and chemical factors with oral cancer in Taiwan. *Jpn J Clin Oncol* 2004;34(4):176-83.
- 56- Haya MC, Bagán JV, Lloria E, Jiménez Y, Pérez A. Leucoplasia verrucosa proliferativa presentación de siete casos clínicos. *Rev Europea de Odonto-Estomatología* 1998; 10(6):364-70.
- 57- Gopalakrishnan R, Weghorst CM, Lehman TA, Calvert RJ, Bijur G, Sabourin CLK, et al. Mutated and wild-type p53 expression and HPV integration in proliferative verrucous leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1997;83:471-7.
- 58- Kannan R, Bijur GN, Mallery SR, Beck FM, Sabourin CLK, Jewell SD, et al. Transforming growth factor-alpha overexpression in proliferative verrucous leukoplakia

and oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1996;82:69-74.

59- Fettig A, Pogrel A, Silverman S, Bramanti TE, Da Costa M, Regezi JA. Proliferative verrucous leukoplakia of the gingiva. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2000;90:723-30.

60- Murrah VA, Batsakis JG. Proliferative verrucous leukoplakia and verrucous hyperplasia. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994;103:660-3.

61- Kahn MA, Dockter ME, Hermann-Petrin JM. Proliferative verrucous leukoplakia : four cases with flow cytometric analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78:469-75.

62- Sciubba JJ. Oral cancer. The importance of early diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol* 2001;2(4):239-51.

63- Klanrit P, Sperandio M, Brown AL, Shirlaw PJ, Challacombe SJ, Morgan PR, et al. DNA ploidy in proliferative verrucous leukoplakia. *Oral Oncology* 2007;43(3):310-6.

64- Boisnic S, Frances C, Szpirglas H, Nimir J, Charpentier Y. Kératoses ambiguës. Place des leucoplasies de la cavité buccale. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 1988;89: 225-65.

65- Shear M, Pindborg J. Verrucous hyperplasia of the oral mucosa. *Cancer* 1980;46:1855-62.

66- Batsakis JG, Suarez P, El-Naggar AK. Proliferative verrucous leukoplakia and its related lesions. *Oral Oncology* 1999;35(4):354-9.

67- Slootweg PJ, Müller H. Verrucous hyperplasia or verrucous carcinoma: an analysis of 27 patients. *Journal of Maxillofacial Surgery* 1983;11:13-9.

68- Ackerman LV. Verrucous carcinoma of the oral cavity. *Surgery* 1948;23:670-8.

69- Adler-Storthz K, Newland JR, Tessin BA, Yeudall WA, Shillitoe EJ. Human papillomavirus type 2 DNA in oral verrucous carcinoma. *J Oral Pathol* 1986;15:472-5.

70 - Myers EN, Suen JY. (ed). *Cancer of the head and neck*. WB Saunders Company Philadelphia 1996.

- 71- Rock JA, Fisher ER. Florid papillomatosis of the oral cavity and larynx. Arch Otolaryngo 1960;72:593-8.
- 72- Gaillard A, Hofmann B, Sapanet M, Gaillard F. le traitement de la papillomatose orale floride. A propos de 10 observations. Rev Stomatol Chir Maxillofac 1983; 84:363-7.
- 73- Collangettes D, Chollet P, Fonck Y. Oral florid papillomatosis. Oral Oncol Eur J Cancer 1993;29B:81-2.
- 74- Kaugars GA, Silverman SJr, Lovas JGL, Thompson JS, Brandt RB, Sing LVN. Use of antioxidant supplements in the treatment of human oral leukoplakia: review of the literature and current studies. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1996;81:5-14.
- 75- Ishiyama A, Eversole LR, Ross DA, Raz Y, Kerner MM, Fu YS, et al. Papillary squamous neoplasms of the head and neck. Laryngoscope 1994;104:1446-50.
- 76- Schoel ML, Sekandari N, Regezi JA, Silverman SJr. Laser management of oral leukoplakias: a follow-up study of 70 patients. Laryngoscope 1999;109:949-53.
- 77- Colella G, Lauza A, Tartaro P. Terapia della leucoplachia del cavo orale. Revisione della letteratura. Minerva Stomatol 1995;44:301-10.
- 78- Epstein JB, Wong FLW, Millner A, Le ND. Topical bleomycin treatment of oral leukoplakia: a randomized double-blind clinical trial. Head & Neck 1994;16:539-44.
- 79- Femiano F, Gombos F, Scully C. Oral proliferative verrucous leukoplakia (PVL); open trial of surgery compared with combined therapy using surgery and methisoprinol in papillomavirus-related PVL. Int J Oral Maxillofac Surg 2001;30:318-22.
- 80- Bagán JV, Murillo J, Poveda R, Gavaldá C, Jiménez Y, Scully C. Proliferative verrucous leukoplakia (PVL): Unusual locations of oral squamous cell carcinomas (OSCC), and field cancerization as shown by the appearance of multiple OSCCs. Oral Oncology 2004;40:440-3.

- 81- Aguado A, Valbuena L, Seoane J, Vázquez J, Asenjo JA. Leucoplasia verrucosa proliferativa (LVP). Un comportamiento biológico infrecuente. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilof* 1995;17:109-12.
- 82- U.I.C.C.: (International Union Against Cancer). TNM classification of malignant tumours. Third edition. Geneva. 1978.
- 83- Ostwald C, Rutsatz K, Schweder J, Schmidt W, Gundlach K, Barten M. Human papillomavirus 6/11, 16 and 18 in oral carcinomas and benign oral lesions. *Med Microbiol Immunol* 2003;192(3):145-8.
- 84- 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* 2001;91(1):62-9.

