



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
**ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO**

**Estudio Clínico de la Leucoplasia Oral  
y el Tratamiento con Láser  
de Dióxido de Carbono**

**D.<sup>a</sup> Adela Rodríguez Luján**

**2022**





# **ESTUDIO CLÍNICO DE LA LEUCOPLASIA ORAL Y EL TRATAMIENTO CON LÁSER DE DIÓXIDO DE CARBONO**

**Adela Rodríguez Luján**

TESIS DOCTORAL

Doctorado en Envejecimiento y Fragilidad

Línea de investigación: Envejecimiento Celular y Tisular

Dirigida por **Dra. Pía López Jornet** y **Dr. Eduardo Pons-Fuster  
López**

Departamento de Dermatología, Estomatología, Radiología y  
Medicina Física de la Universidad de Murcia

Murcia

2022



## **PRÓLOGO Y AGRADECIMIENTOS**

---

El siguiente estudio ha sido realizado por Adela Rodríguez Luján para la obtención de la tesis doctoral en el programa de Doctorado en Envejecimiento y Fragilidad de la Universidad de Murcia, dentro de la línea de investigación en Envejecimiento Celular y Tisular. El comienzo de la tesis doctoral fue en el curso académico 2017/18 y se ha realizado durante los 3 cursos académicos sucesivos. Todo este proceso se ha gestado tras la realización del III Master Propio en Medicina Bucal de la Universidad de Murcia en el periodo comprendido entre septiembre de 2016 y noviembre de 2017 y el trabajo fin de máster “Estudio clínico: Tratamiento con Láser de Dióxido de Carbono en Leucoplasias Orales”.

El tema elegido es el “Estudio clínico de la Leucoplasia Oral y el Tratamiento con Láser de Dióxido de Carbono”. Este documento es el producto de la investigación durante 4 años en las instalaciones de la Clínica Odontológica Universitaria del Hospital Morales Meseguer de Murcia, concretamente en la Unidad Docente de Medicina Bucal perteneciente al Departamento de Dermatología, Estomatología, Radiología y Medicina Física de la Universidad de Murcia.

Se ha desarrollado bajo la dirección de la Catedrática Dña. Pía López Jornet y el Dr. Don Eduardo Pons-Fuster López. La tutela principal ha sido desarrollada por la Dra. Dña. Pía López Jornet y siempre presente la ayuda de todo su equipo los doctores Don Francisco José Gómez García, Dña. Fe Galera Molero, Dña. Cristina Aznar Cayuela, Don Francisco Parra Pérez y Dña. Consuelo Rodríguez Agudo, a los que agradezco profundamente su apoyo y dedicación dentro del departamento de Medicina Bucal. Cabe mencionar la amabilidad y ayuda de todo el personal de la Clínica Odontológica Universitaria en la segunda planta del Hospital Morales Meseguer, desde el personal de administración y recepción, auxiliares, personal de limpieza, compañeros de otros departamentos y alumnos en prácticas que cada año pasan por esas instalaciones para su formación en el Grado de Odontología.

Este documento habría sido imposible escribirlo sin la ayuda incondicional de mi marido, sobre todo en la última fase de la tesis, la que ha querido coincidir con la última fase también de un momento muy importante personal-familiar. Mi más profundo amor hacia él, al que le dedico estas palabras, por aguantar horas sin mi presencia, por la paciencia

que ha tenido en estos meses y por el apoyo y empuje que me ha demostrado cada día. Mis hijos, una hija presente en cada momento de escritura, pues está por llegar y se ha ido gestando a la vez que estas líneas, y un hijo al que adoro que me ha acompañado cada día con la paciencia inconsciente que puede tener un niño y que “entiende que mamá tiene que trabajar”.

Parece obvia y a veces se olvida la presencia y la ayuda de la familia, mis padres y hermano, pero ha sido tan importante que realmente habría sido imposible sin ellos, tanto a nivel profesional como a nivel personal. Las horas extra que han trabajado para que este proyecto saliera hacia delante tienen que ser mencionadas, el esfuerzo para que no abandonara este proyecto en algunos momentos y siempre todas las facilidades con una sonrisa. El cariño de mis suegros y cuñados y cuñadas, y las horas de cuidado de nuestra familia que han dedicado para que este proceso pudiera ser terminado ha sido fundamental. A todos ellos, muchísimas gracias.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

---

	<b>Pág.</b>
<b>I. LEUCOPLASIA ORAL: INTRODUCCIÓN</b>	10
1.1 Definición y epidemiología.	10
1.2 Trastornos orales potencialmente malignos: Factores y prevalencia de transformación a cáncer oral.	13
1.3 Etiología.	14
1.4 Diagnóstico y diagnóstico diferencial.	16
1.5 Manifestaciones clínicas.	17
1.5.1 Forma clínica.	18
1.5.2 Localización de la lesión.	19
1.5.3 Distribución de las lesiones.	20
1.5.3.1 Leucoplasia verrugosa proliferativa.	
1.7 Histopatología.	23
1.7 Biomarcadores moleculares.	25
1.7.1 Microarray	26
1.8 Tratamiento de la leucoplasia oral.	28
1.8.1 Modificación de hábitos del paciente.	29
1.8.2 Tratamiento médico.	29
1.8.3 Tratamiento quirúrgico.	32
1.9 Quimioprevención.	35
1.10 Evolución y seguimiento de la leucoplasia oral.	36
<b>II. JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS</b>	37
<b>III. OBJETIVOS DE LA TESIS</b>	39
2.1 Objetivos generales	
2.2 Objetivos específicos	
<b>IV. MATERIAL Y METODOS</b>	40
4.1 Anamnesis, historia clínica y eliminación de factores de riesgo.	40

4.2 Registro fotográfico de la leucoplasia.	41
4.3 Tratamiento con láser de CO <sub>2</sub> de la leucoplasia oral.	42
4.4 Seguimiento y revisión del tratamiento.	45
4.5 Valoración de recidivas.	45
4.6 Estudio de biomarcadores genéticos específicos en la leucoplasia oral.	47
4.7 Análisis estadístico.	50
4.7.1 Estudio del tratamiento de la leucoplasia oral con láser de CO <sub>2</sub> .	
4.7.2 Estudio de biomarcadores genéticos específicos en la leucoplasia oral.	
<b>V. RESULTADOS</b>	<b>52</b>
5.1 Descriptivo de las variables clínicas de los pacientes.	52
5.2 Descriptivo de las variables morfológicas de las leucoplasias orales	53
5.3 Análisis de los resultados del tratamiento con láser de CO <sub>2</sub> de la leucoplasia oral.	55
5.4 Análisis de los resultados con el programa ImageJ.	58
5.5 Resultados del análisis estadístico en la recidiva de las lesiones.	60
5.6 Análisis de la sintomatología postquirúrgica, la cicatrización de las heridas y las complicaciones durante el tratamiento y postcirugía.	63
5.7 Resultados del estudio de los marcadores genéticos específicos en la leucoplasia oral.	65
<b>VI. DISCUSIÓN</b>	<b>70</b>
<b>VII. CONCLUSIONES</b>	<b>88</b>
<b>VIII. REFERENCIAS</b>	<b>90</b>
<b>IX. ANEXOS</b>	<b>101</b>



<b>Anexo 1:</b> aprobación por parte de la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia (ID: 2225/2018).	101
<b>Anexo 2:</b> aprobación por parte del Comité de Bioseguridad en Experimentación de la Universidad de Murcia (ID: CBE 181/2018).	103
<b>Anexo 3:</b> consentimiento informado para tratamiento de leucoplasia oral con láser de CO2.	105
<b>Anexo 4:</b> hoja de información a la persona participante sobre el proyecto.	107
<b>Anexo 5:</b> historia clínica específica que incluye una descripción de la lesión.	110
<b>Anexo 6:</b> registro del tratamiento con láser de CO2 según la localización de la lesión: mucosa de revestimiento, mucosa masticatoria y mucosa especializada.	112
<b>Anexo 7:</b> instrucciones postoperatorias en las intervenciones con láser de dióxido de carbono.	116
<b>Anexo 8:</b> DEGs coincidentes entre nuestras muestras de leucoplasias orales y los de carcinoma oral de células escamosas pertenecientes a las bases GEO Omnibus.	118



## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

---

<b><u>Introducción:</u></b>	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.1.</b> Definiciones históricas de la leucoplasia oral.	12
<b>Tabla 1.2.</b> Características asociadas con el incremento del riesgo de progresión maligna de los trastornos orales potencialmente malignos.	14
<b>Figura 1.1.</b> Diferentes formas clínicas de leucoplasia oral.	18
- Figura A. Leucoplasia oral homogénea.	
- Figura B. Leucoplasia oral no homogénea.	
<b>Figura 1.2.</b> Diferentes localizaciones de leucoplasia oral.	20
<b>Figura 1.3.</b> Ilustración de la tecnología con microarray. Ilustración de National Human Genome Research Institute.	26
 <b>Material y métodos:</b>	
<b>Figura 4.1.</b> Registro fotográfico de las leucoplasias orales	41
<b>Figura 4.2.</b> Medidas de protección durante el uso del láser de CO <sub>2</sub> .	42
<b>Figura 4.3.</b> Máquina de láser de CO <sub>2</sub> utilizada en el estudio (Lasersat 20W, Satelec®, Pierre Rolland, SATELEC®, S.A., Barcelona, España).	43
<b>Figura 4.4.</b> Intervención quirúrgica de vaporización de una placa de leucoplasia oral con láser de CO <sub>2</sub> .	43
<b>Figura 4.5.</b> Muestra de pacientes y sesiones de vaporización con láser de CO <sub>2</sub> .	44
<b>Figura 4.6.</b> Calibrado y análisis del área de las lesiones con el programa ImageJ.	46
<b>Figura 4.7.</b> Ilustración Clariom S Array (Thermo Fisher Scientific).	49

**Resultados:**

<b>Tabla 5.1.</b> Descriptivo de las variables clínicas.	52
<b>Tabla 5.2.</b> Descriptivo de las variables de hábitos orales.	53
<b>Tabla 5.3</b> Descriptivo de las variables relacionadas con la lesión.	54
<b>Tabla 5.4.</b> Descriptivo y comparativo de la localización según forma clínica.	54
<b>Tabla 5.5.</b> Efecto de las variables relacionadas con la lesión en la recidiva.	61
<b>Tabla 5.6.</b> Efecto de las variables relacionadas con los hábitos de los pacientes en la recidiva.	62
<b>Tabla 5.7.</b> Sintomatología postquirúrgica y cicatrización de la herida a las 1-4 semanas de la cirugía.	63
<b>Tabla 5.8.</b> Diez procesos más afectados de ontología genética en saliva y en las células exfoliadas orales.	65
<b>Tabla 5.9.</b> Los 20 principales nodos de la red reguladora de miRNA-genes.	69
<b>Figura 5.1.</b> Diferentes leucoplasias orales tratadas con láser de CO <sub>2</sub> .	55
- Figura A y B. Leucoplasia oral sin tratar y tras el tratamiento con láser de CO <sub>2</sub> .	
- Figura C y D. Leucoplasia oral vaporizada con láser de CO <sub>2</sub> y revisión pasados tres meses.	
<b>Figura 5.2.</b> Resultados a los 18 meses del inicio del tratamiento de leucoplasia oral con láser de CO <sub>2</sub> .	56
<b>Figura 5.3.</b> Recidivas registradas a los 18 meses del inicio del tratamiento de leucoplasia oral divididas en los 3 grupos de pacientes.	56
<b>Figura 5.4.</b> Transformación a carcinoma oral de una leucoplasia oral en encía.	57
- Figura A, B y C. Hiperplasia pseudoepiteliomatosa.	
- Figura D y E. Hiperplasia epitelial.	
- Figura F. Hiperplasia epitelial papilomatosa con atipia leve reactiva.	
- Figura G. Hiperplasia con displasia severa: CARCINOMA IN SITU.	

<b>Figura 5.5.</b> Comparativa del área en mm <sup>2</sup> de las fotos de inicio-final de las leucoplasias orales que han dado como resultado una recidiva leve tras el tratamiento con láser de CO <sub>2</sub> .	58
<b>Figura 5.6.</b> Análisis de diferentes imágenes con el programa ImageJ.	59-60
<b>Figura 5.7.</b> Recidivas registradas a los 18 meses del inicio del tratamiento de leucoplasia oral según las variables relacionadas con la lesión: forma clínica, tamaño y displasia.	61
<b>Figura 5.8.</b> Supervivencia libre de enfermedad a 18 meses.	62
<b>Figura 5.9.</b> Complicaciones postquirúrgicas del tratamiento con láser de CO <sub>2</sub> . - Figura A,B,C y D. Leucoplasia inicial, úlcera en la lengua tras la vaporización y su recuperación a la semana y al final del tratamiento. - Figura E, F y G. Leucoplasia inicial, úlcera en mucosa yugal tras la vaporización y mucosa al final del tratamiento	64
<b>Figura 5.10.</b> Diagrama de Venn para los genes superpuestos entre nuestros genes que se encuentran alterados en la leucoplasia oral y los genes expresados diferentes obtenidos de muestras de carcinoma oral de células escamosas de GSE9844, GSE3524, GSE25099 y GSE138206.	67
<b>Figura 5.11.</b> Red reguladora entre miRNA-gen y DEGs superpuestos. Los círculos rojos representan nodos de genes; los círculos azules representan nodos de miARN.	68
<b>Figura 5.12.</b> Red de interacción proteína-proteína de los genes expresados diferencialmente superpuestos entre leucoplasia oral y carcinoma oral de células escamosas y los socios funcionales.	69

### **Discusión:**

<b>Tabla 6.1.</b> Revisión sistemática y metaanálisis del tratamiento con láser de la leucoplasia oral. Tabla modificada y ampliada de los artículos de Pauli Paglioni y cols. de 2020 y Mogedas-Vegara y cols. de 2016.	76-78
--	-------



## I. LEUCOPLASIA ORAL: INTRODUCCIÓN.

---

### 1.1 DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA

La terminología de las lesiones orales que pueden evolucionar hacia la malignidad ha variado a lo largo de los años. El término *pre maligno* se ha utilizado habitualmente pero implica que una lesión inevitablemente se convierta en maligna. Sin embargo, si queremos definir una lesión donde el riesgo sólo es estadísticamente mayor, se debe utilizar el término *potencialmente maligno*.

"*Potencialmente pre maligno*" es un término alternativo que está en consonancia con el concepto de que no todas las lesiones dentro de la misma entidad tienen un potencial de progresión hacia la malignidad y que el clínico se enfrenta a un cambio en la mucosa que sólo es una lesión potencialmente pre maligna. En un taller de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2007<sup>1</sup>, se recomendó que se abandonara la distinción entre lesiones y afecciones potencialmente malignas en favor de un término común, *trastornos orales potencialmente malignos (OPMD)*, y recientemente se ha vuelto a aceptar en la última clasificación de la OMS<sup>2</sup>.

El término OPMD reconoce el hecho de que incluso en pacientes con una lesión definida, como la leucoplasia, la malignidad puede surgir en esa u otra parte de la cavidad oral como resultado de un cambio de campo, incluso en una mucosa clínicamente normal. Se han asociado numerosos trastornos orales con un mayor riesgo de carcinoma oral de células escamosas (COCE)<sup>3</sup>. Esta es la lista actualizada de los OPMDs <sup>2</sup>:

- Leucoplasia
- Eritroplasia
- Leucoplasia verrucosa proliferativa
- Liquen plano oral
- Fibrosis submucosa oral
- Queilitis actínica
- Lesiones palatinas de tabaquismo inverso
- Lupus eritematoso discoide
- Disqueratosis congénita
- Epidermólisis bullosa

- Anemia de Fanconi
- Lesiones liquenoides orales
- Enfermedad crónica de injerto contra huésped

La leucoplasia oral (del griego *leukós*, blanco; y *plasía*, proliferación) fue definida clínicamente por la OMS en 1978 como “una lesión predominantemente blanca de la mucosa oral que no puede caracterizarse como ninguna otra lesión conocida y con una elevada tendencia a convertirse en un cáncer oral”<sup>4</sup>. Se definió como una “lesión precancerosa”<sup>4</sup>. Tras esa fecha numerosos autores han intentado dar nomenclatura a esta patología proponiendo e introduciendo cambios en la definición (tabla 1.1).

En 2007, el grupo de trabajo del Centro Colaborador de la OMS, después de considerar todas las definiciones propuestas de leucoplasia oral hasta la fecha, acordó enmendar la definición original de la OMS y concluyó que el término leucoplasia debe usarse para reconocer “placas blancas de riesgo de transformación maligna cuestionable en las cuales se han excluido otras enfermedades conocidas que no conllevan un riesgo incrementado de cáncer”<sup>1</sup>. Describieron que la leucoplasia es un término clínico y no tiene una histología específica.

La Sociedad Española de Cirugía Bucal también presentó en 2017 una Guía de Práctica Clínica<sup>5</sup> tras el análisis de un comité de expertos de los diferentes parámetros clínico-patológicos de la leucoplasia oral. Se consideró que siguiendo las últimas propuestas hasta la fecha, se puede diagnosticar como leucoplasia oral a: “toda aquella placa predominantemente blanca de la mucosa oral que potencialmente puede malignizarse, tras haber excluido clínica e histopatológicamente cualquier otra enfermedad o trastorno blanco definible”.

En marzo 2020, la actualización de la reunión de 2007 del Centro Colaborador de la OMS celebrada en el Reino Unido por expertos invitados para discutir sobre los avances en los OPMD, no encontró ninguna razón para cambiar la definición propuesta en 2007 que ahora se recoge ampliamente en la literatura mundial<sup>2</sup>.



**Tabla 1.1: Definiciones históricas de la leucoplasia oral.**

<b>Leucoplasia oral. Definición:</b>	<b>Autores. Año</b>
<i>“Una lesión predominantemente blanca de la mucosa oral que no puede caracterizarse como ninguna otra lesión conocida y con una elevada tendencia a convertirse en un cáncer oral”.<sup>4</sup></i>	Kramer y cols. OMS 1978
<i>“Una mancha o placa blanca que no puede ser caracterizada clínica o patológicamente como ninguna otra enfermedad y que no está asociada a ningún agente físico o químico causante, excepto el consumo de tabaco”.<sup>6</sup></i>	Axell y cols 1984
<i>“La leucoplasia es una mancha o placa blanquecina que no puede ser caracterizada clínica o patológicamente como ninguna otra enfermedad y no está asociada a ningún agente causal físico o químico, excepto el consumo de tabaco”.<sup>7</sup></i>	Axell y cols 1996
<i>‘Placas blancas de riesgo dudoso habiendo excluido (otras) enfermedades o trastornos conocidos que no conllevan un mayor riesgo de cáncer’<sup>1</sup></i>	Warnakulasuriya y cols. 2007 Centro colaborador OMS
<i>“Una mancha o placa predominantemente blanca que no puede ser caracterizada clínica o patológicamente como ningún otro trastorno; la leucoplasia oral conlleva un mayor riesgo de desarrollo de cáncer, ya sea en la zona de la leucoplasia o en otra parte de la cavidad o en la región de la cabeza y el cuello”.<sup>8</sup></i>	Van del Waal. 2015
<i>“Toda aquella placa predominantemente blanca de la mucosa oral que potencialmente puede malignizarse, tras haber excluido clínica e histopatológicamente cualquier otra enfermedad o trastorno blanco definible”<sup>5</sup></i>	Sociedad Española de Cirugía Bucal 2017
<i>“Placas blancas de riesgo de transformación maligna cuestionable habiendo excluido (otras) enfermedades o trastornos conocidos que no conllevan un mayor riesgo de cáncer”<sup>2</sup></i>	Warnakulasuriya y cols. 2021

Dentro de las lesiones orales, la leucoplasia oral sigue siendo la entidad más comúnmente encontrada en la práctica clínica, llegando a ser la forma más frecuente de lesión crónica oral (3% de adultos). Además, es el OPMD más frecuente de la cavidad oral, representando el 85% de dichas lesiones (90% en lengua, bermellón labial y suelo de boca)<sup>9</sup>.

En la revisión sistemática de Petti y cols.<sup>10</sup> la prevalencia mundial de la leucoplasia osciló entre 1.49% y 2.6%, y sugirió que el número global de casos de cáncer oral asociados a la leucoplasia oral está probablemente subdeclarado, particularmente en los países subdesarrollados, en los que estas cifras se elevan considerablemente en los países del

sudeste asiático y particularmente en la India.

Posteriormente, la prevalencia global de leucoplasia oral se ha estimado en 2.60%<sup>11</sup>. Para España y otros países desarrollados de nuestro entorno, probablemente es más razonable aceptar una prevalencia del 0.5%<sup>12</sup>.

En 2019 se publicó un estudio bibliométrico<sup>13</sup> sobre el análisis de los artículos más citados sobre la leucoplasia oral. Los resultados proporcionan una perspectiva histórica de la evolución científica y sugieren nuevas tendencias de investigación y práctica clínica sobre esta entidad patológica. La mayoría de los artículos de alta calidad fueron la investigación de fármacos quimiopreventivos y marcadores moleculares, lo que puede indicar una tendencia de estos temas clave que analizaremos más adelante.

## **1.2 TRASTORNOS ORALES POTENCIALMENTE MALIGNOS: FACTORES Y PREVALENCIA DE TRANSFORMACIÓN A CÁNCER ORAL**

Los trastornos orales potencialmente malignos (OPMD), como su nombre indica, pueden evolucionar a cáncer oral. El objetivo principal de su diagnóstico, clasificación y tratamiento es la disminución de su tasa de transformación maligna y el diagnóstico precoz de los cánceres que aparezcan sobre ellos, pero la evaluación del riesgo de un paciente individual es compleja e intervienen diferentes factores (Tabla 1.2).

Aunque la progresión hacia el cáncer es el resultado más significativo, sólo unos pocos OPMD progresan hasta ese estadio; el resto puede persistir sin cambios, puede aumentar o reducir su tamaño, o incluso puede incluso resolverse por completo.

El proceso de realización de una evaluación clínica de una lesión sospechosa puede considerarse en 3 etapas: historia clínica, examen clínico y biopsia quirúrgica con evaluación histopatológica. Estos son algunos aspectos importantes resumidos<sup>11, 14, 3</sup>:

- Las mujeres no fumadoras se consideran de mayor riesgo en comparación con los hombres.
- La eritroplasia tiene un mayor riesgo en comparación con la leucoplasia oral.
- Las lesiones no homogéneas tienen un mayor riesgo en comparación con las lesiones homogéneas,

- Las lesiones moteadas tienen un mayor riesgo en comparación con las lesiones verrugosas.
- La evaluación histopatológica es primordial donde las displasias graves y moderadas tienen un mayor riesgo que las displasias leves.

La tasa de transformación maligna para todos los tipos de leucoplasia oral varía enormemente de un lugar a otro dentro de la boca, de una población a otra y de un grupo a otro. Se estima entre 0.13% y el 3,5% según los artículos revisados<sup>11, 15, 16</sup>. La revisión sistemática sobre la prevalencia mundial de leucoplasia oral de Petti<sup>10</sup> (2003) trató de estimar la incidencia anual de cáncer oral atribuible a las leucoplasias orales y concluyó que su tasa anual de transformación maligna es del 1,36%.

**Tabla 1.2: Características asociadas con el incremento del riesgo de progresión maligna de los OPMD** <sup>3</sup>

	<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>PARÁMETROS</b>	<b>ASOCIACIÓN</b>
<b>Características clínicas</b>	Tamaño de la lesión	>200 nm <sup>2</sup>	Severa
	Forma clínica	No homogénea	Severa
	Color	Rojo	Severa
	Localización	Lengua y suelo de la boca	Severa
	Sexo	Mujer	Media
	Edad	>50 años	Media
	Hábitos	No fumador	Débil
<b>Características histológicas</b>	Displasia	Grave-Moderada	Severa
	Virus Papiloma Humano	VPH-16 positivo	Media
	Análisis del ADN	Aneuploidía	Media
	Pérdida de heterogeneidad	Muchos genes involucrados	Media

### 1.3 ETIOLOGIA

Hay una fuerte asociación entre el consumo de tabaco y alcohol con la presencia de patologías orales, sobre todo las más preocupantes como el cáncer oral <sup>17</sup>. Sin embargo, las pruebas de que el tabaco causa leucoplasia oral siguen siendo en gran medida deductivas y se basan en observaciones de regresión y/o desaparición de algunas de estas lesiones tras el abandono del tabaco<sup>16, 5</sup>, ya que la mayoría de los estudios no han mostrado una asociación concluyente entre el tabaco y las leucoplasias orales.

Otros autores sí que defienden que el principal factor etiológico de la leucoplasia oral es el consumo de tabaco en sus diferentes formas y variedades. En la revisión de González-Moles y cols.<sup>12</sup> podemos apreciar que los fumadores tienen 7 veces más riesgo de desarrollar leucoplasias que los no fumadores, y que su aumento es progresivo en relación a los años de consumo y la cantidad de tabaco diario. En esta revisión, entre el 30% y 56% de las lesiones desaparecen después de 3 meses de abstinencia, cifra que se eleva al 78% después de un año sin consumir tabaco. La localización de la leucoplasia oral también varía en estos pacientes, siendo más frecuente en el suelo de la boca.

El abuso de alcohol y su asociación con el cáncer oral también ha sido establecido fuertemente. Sin embargo, aunque clásicamente se ha considerado un factor de riesgo independiente para el desarrollo de la leucoplasia oral<sup>18</sup>, el papel del alcohol en el desarrollo de la leucoplasia oral está menos claro<sup>16,5</sup>. Algunos autores están de acuerdo en que la combinación de tabaco y alcohol sí que potencia extraordinariamente el riesgo de transformación maligna y que probablemente se relaciona con el incremento de la solubilidad de los carcinógenos y la atrofia de la mucosa oral producidas por el alcohol, con los agentes mutagénicos que se generan en el metabolismo (acetaldehído) y con la disminución de la capacidad del ADN asociada al consumo de alcohol<sup>12</sup>.

A estos dos factores etiológicos tradicionales, alcohol y tabaco fumado o mascado, hay que añadir la masticación de nuez de betel. El hábito de mascar nueces de betel es un factor etiológico importante en el sudeste asiático, lo que aumenta la prevalencia de estas lesiones en esta región. La eliminación de este hábito puede prevenir el 62% de las leucoplasias orales<sup>19</sup>.

En cuanto a las infecciones asociadas, la infección crónica por *Candida Albicans* también ha sido señalada como un agente etiológico de leucoplasia, especialmente en las formas que se localizan en la mucosa oral retrocomisural. Algunos estudios han señalado que aproximadamente un 22% de las leucoplasias orales albergan ADN de Virus del Papiloma Humano, sobre todo del tipo 18<sup>12</sup>.

Las leucoplasias orales que surgen en ausencia de tales factores de riesgo identificables se describen como leucoplasias idiopáticas, y se considera que tienen una base genética subyacente para su desarrollo<sup>20</sup>. La edad avanzada es uno de los factores asociados a estas leucoplasias sin factor irritante adicional<sup>21</sup>.

#### 1.4 DIAGNÓSTICO Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Realizando un repaso a la literatura publicada, y según la definición de la leucoplasia oral como excluyente de otra lesión conocida, resulta imprescindible la realización de una biopsia incisional y el estudio histopatológico para descartar otra entidad patológica y detectar eventos malignos tempranos con su consecuente manejo quirúrgico más agresivo. Existe unanimidad en la comunidad científica y evidencia científica de numerosos artículos que apoyan la necesidad e importancia de realizarla en todos los casos para alcanzar un diagnóstico definitivo y para predecir el pronóstico. El análisis histopatológico de una biopsia de la leucoplasia oral sigue siendo el *gold standard* para su diagnóstico final y su valoración pronóstica<sup>5,22</sup>.

En cuanto al diagnóstico macroscópico, las principales enfermedades orales que pueden presentarse como lesiones blancas orales y que deben ser diferenciadas de la leucoplasia oral son las siguientes:

- Nevo blanco esponjoso
- Queratosis friccional (alveolar)
- Morsicatio buccarum: morder el labio, las comisuras o las mejillas
- Línea alba
- Quemadura química
- Candidiasis pseudomembranosa
- Leucoedema
- Liquen plano oral (LPO)
- Lesión liquenoide
- Liquen esclero-atrófico
- Lupus eritematoso
- Leucoplasia vellosa oral
- Puntos de Fordyce
- Palatitis nicotínica
- Sífilis secundaria
- Papiloma y lesiones hiperplásicas asociadas al virus del papiloma humano (VPH)
- Injerto de piel
- Estomatitis urémica (antecedentes de enfermedad renal)
- Carcinoma de células escamosas

En base a los resultados de un estudio realizado por Brouns y cols.<sup>23</sup> en cuanto a la importancia de un correcto diagnóstico de la leucoplasia, se presentaron unos factores estrictos de certeza en el uso de criterios diagnósticos para la leucoplasia oral:

C1: Evidencia de una sola visita, aplicando la inspección y la palpación como el único medio de diagnóstico (diagnóstico clínico provisional), incluido un cuadro clínico de la lesión.

C2: Evidencia obtenida por un resultado negativo de eliminación de factores etiológicos sospechosos, por ejemplo irritación mecánica, durante un período de seguimiento de 6 semanas (diagnóstico clínico definitivo).

C3: Como C2, pero complementado por una biopsia incisional previa al tratamiento en la que, histopatológicamente, no se observa lesión definible (diagnóstico compatible histopatológicamente).

C4: Evidencia después de la cirugía y examen patológico del espécimen resecado.

En el último artículo de actualización de la leucoplasia oral del Centro Colaborador de la OMS<sup>2</sup>, se ha actualizado tanto la nomenclatura como la clasificación, y en él se facilitan unas pautas de diagnóstico sencillas que nos ayudan en el diagnóstico clínico:

- Una mancha/placa predominantemente blanca que no se puede borrar.
- La mayoría de las leucoplasias homogéneas afectan a un área circunscrita y tienen bordes bien delimitados. Un subgrupo más pequeño puede presentar bordes difusos.
- Las leucoplasias no homogéneas suelen presentar bordes más difusos y pueden tener componentes rojos o nodulares.
- No hay indicios de irritación traumática crónica en la zona
- No es reversible al eliminar las causas traumáticas aparentes, es decir, demuestra una característica de persistencia.
- No desaparece o se desvanece al estirar el tejido.
- Por exclusión de otras lesiones blancas o blancas/rojas.

## **1.5 MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

Las manifestaciones clínicas de la leucoplasia oral pueden tomar diferentes formas definidas de acuerdo con el patrón clínico (homogéneo o no homogéneo), la distribución o diseminación de la lesión (focal o diseminada) y la ubicación dentro de la cavidad oral<sup>24</sup>.

### **1.5.1 Forma clínica**

La apariencia clínica es un dato fundamental en el diagnóstico de la leucoplasia oral. En la mayoría de los artículos se describe este parámetro y se busca su relación con el tratamiento, las recidivas y la transformación maligna (Fig. 1.1).

Se describen dos tipos de leucoplasia oral según su forma clínica:

- La **leucoplasia homogénea** es una lesión predominantemente blanca, plana, fina y de consistencia no indurada. Puede presentar grietas o hendiduras poco profundas. Es la forma clínica más común.
- La **leucoplasia no homogénea** es una lesión predominantemente blanca o roja (eritroleucoplasia) con una superficie irregular, nodular, exofítica, verrugosa y/o ulcerada. 3 subtipos:
  - Leucoplasia nodular: pequeñas excrecencias polipoides o redondeadas, rojas o blancas.
  - Leucoplasia verrugosa: su superficie es elevada, exofítica, arrugada o estriada.
  - Eritroleucoplasia: lesión blanca y roja (moteada) pero conservando predominantemente su carácter blanco. Los márgenes pueden ser irregulares.

***Fig.1.1. Diferentes formas clínicas de leucoplasia oral.***

***Fig A. Leucoplasia oral homogénea.***



***Fig. B. Leucoplasia oral no homogénea.***



En lo que se refiere al grado de malignización según la forma clínica, las leucoplasias no homogéneas tienen un potencial de transformación maligna de entre 4 a 5 veces mayor que el de las leucoplasias homogéneas. Esto no resta importancia al control y seguimiento de las leucoplasias homogéneas, que han mostrado tasas de transformación maligna de un 0,6-5%<sup>25</sup>.

En un estudio realizado por Holmstrup y cols.<sup>26</sup> que incluía 269 lesiones de leucoplasia oral, el análisis de regresión logística mostró un riesgo 7 veces mayor (OR = 7.0) de leucoplasia no homogénea para el desarrollo maligno en comparación con leucoplasia homogénea.

Esta forma clínica de leucoplasia no homogénea nos pone en alerta sobre la identificación de los pacientes de riesgo, pero no nos exime de un tratamiento similar en las leucoplasias homogéneas. Todo tratamiento de estas lesiones se dirige y centra en la reducción de la transformación maligna mediante una intervención inmediata.

### **1.5.2 Localización de la lesión**

La localización más frecuente de leucoplasia oral es en la mucosa bucal, siguiéndole la mucosa gingival y la lengua<sup>27</sup>.

Los estudios y revisiones posteriores<sup>11,14</sup> coinciden en que la localización más frecuente es la mucosa bucal, y nos aportan que la transformación maligna se encuentra con mayor frecuencia en las lesiones de la lengua (24.22%). El segundo sitio más común con transformación maligna es la combinación de lengua y suelo de la boca (14.85%). Aunque la mucosa bucal es el sitio más común para la leucoplasia oral, tiene la menor tasa de transformación maligna (3,53%), así como en el reborde alveolar y en el paladar.

Todos estos estudios nos alertan de las zonas más frecuentes en las que se localizan las leucoplasias y de la importancia que tiene el clínico odontólogo en la revisión de todas estas mucosas orales, así como de la relevancia que debemos darle al encontrarnos una lesión de leucoplasia oral en la lengua y el suelo de la boca por su importante tasa de transformación maligna.



**Fig.1.2: Diferentes localizaciones de leucoplasia oral.**



### **1.5.3 Distribución de las lesiones**

La distribución o extensión de la leucoplasia oral en la cavidad oral es un factor pronóstico para la transformación maligna a largo plazo. La leucoplasia oral focalizada se asocia con un buen pronóstico a largo plazo, mientras que las formas diseminadas, que afectan a varios puntos de la mucosa oral, se considera que indican un peor pronóstico<sup>24</sup>.

#### **1.5.3.1 Leucoplasia verrugosa proliferativa:**

Especial atención merece la **leucoplasia verrugosa proliferativa** (LVP) descrita por primera vez en 1985 como “una forma particular de leucoplasia que comienza como una hiperqueratosis simple, pero tiende a diseminarse y volverse multifocal. Se caracteriza por ser de crecimiento lento, persistente e irreversible. En el tiempo las áreas se vuelven

*exofíticas y verrugosas*”<sup>28</sup>. La LVP es un tipo de leucoplasia rara, particularmente agresiva, recalcitrante, a menudo extendida y multifocal. Es resistente a todas las formas de terapia, ya que la recurrencia es la regla y puede variar e ir modificándose desde una hiperqueratosis simple hasta un carcinoma invasivo de células escamosas.

En las revisiones sistemáticas y estudio de series y casos sobre la LVP<sup>29, 30, 31, 32, 33</sup> hay coincidencias en que esta patología afecta principalmente a mujeres adultas, tiene una distribución particular normalmente diseminada, unas características histopatológicas particulares de las lesiones transformadas y una tasa de transformación maligna muy elevada. En cuanto a la distribución, la zona más frecuentemente es la mucosa gingival, seguida de la mucosa bucal y la lengua.

En 2010, Cerero Lapiedra y cols.<sup>15</sup> propusieron unos criterios para el diagnóstico definitivo de LVP. Se propone que para poder establecer el diagnóstico de LVP debe producirse una de las siguientes opciones:

Opción 1: Tres criterios mayores (incluido siempre el E)

Opción 2: Dos criterios mayores (incluido siempre el E) + Dos criterios menores.

A continuación se describen los criterios mayores y menores para poder llegar a su correcto diagnóstico:

Criterios mayores:

- A. Lesión de leucoplasia con más de dos localizaciones orales, con predominio en encías, procesos alveolares o paladar.
- B. Existencia de alguna zona verrugosa.
- C. Lesiones que se extienden o se engrosan durante su evolución.
- D. Recidiva en un lugar ya tratado.
- E. Histológicamente: desde una hiperqueratosis hasta hiperplasia verrugosa o carcinoma oral.

Criterios menores:

- a. Lesión de leucoplasia que ocupe al menos 3 cm al sumar todas sus áreas afectadas.
- b. Mujer.
- c. No fumador.
- d. Tiempo de evolución superior a 5 años.

Para simplificar estos criterios diagnósticos que pueden llevar a algún tipo de confusión, en 2013 Carrard y cols.<sup>34</sup> publicaron un artículo en el que se resumen a 4 criterios diagnósticos:

- Presencia de leucoplasia verrugosa que afecta a dos o más subsitios orales.
- Extensión total de las áreas de al menos 3cm.
- Periodo bien documentado de al menos cinco años de evolución de la enfermedad.
- Propagación y aparición de una o más recidivas en una zona previamente tratada.

En la LVP no existe una relación clara con el consumo de tabaco y alcohol, así como tampoco se han encontrado diferencias significativas en la presencia de ADN del Virus del Papiloma Humano ni de *Candida Albicans* entre la LVP y la leucoplasia oral<sup>20</sup>.

En cuanto al estudio genético, la alta incidencia de anomalías en la ploidía del ADN y el aumento de la expresión del complejo Mcm2 (complejo de proteínas reguladoras que intervienen en la replicación del ADN) puede predecir un cambio maligno en la leucoplasia verrugosa proliferativa oral. Los hallazgos clínico-patológicos asociados a los resultados inmunohistoquímicos y de ploidía de ADN apoyan el perfil distintivo y agresivo de esta entidad<sup>35</sup>.

Existe coincidencia en diversos estudios de la resistencia de la LVP a los diferentes intentos de terapia (tasa media de recurrencia del 85% para todas las modalidades de tratamiento) y de su alta propensión a la displasia y/o la progresión de la malignidad, mucho más elevada que la leucoplasia oral. En dos recientes revisiones sistemáticas<sup>36,33</sup> sobre las tasas de transformación maligna en LVP, las cifras son del 49,5% y 45.8% respectivamente. Esta progresión y los diferentes estadios indican la necesidad de realizar múltiples y repetidas biopsias a lo largo del tiempo<sup>37, 30, 38, 20, 39</sup>.

Las propias características ya nombradas de la LVP, tener un curso clínico progresivo, unas características clínicas e histopatológicas cambiantes y su alta progresión al cáncer de la cavidad oral en comparación con otras OPMDs, hacen que ya en 2021 se defina como una afección distinta a la leucoplasia oral<sup>2</sup>.

## **1.6 HISTOPATOLOGÍA**

La leucoplasia oral presenta un patrón histopatológico variable. Se puede clasificar como leucoplasia oral desde una hiperplasia hiperqueratósica sin displasia epitelial, hasta una displasia severa con fenómenos de atrofia y/o hiperplasia epitelial.

La hiperplasia se define como una excesiva multiplicación de las células normales de un órgano. La hiperqueratosis es el aumento del grosor de la capa córnea de la epidermis y se clasifica en:

- Ortoqueratosis: aumento del número de células córneas. Es una anomalía cuantitativa.
- Paraqueratosis: las células córneas presentan núcleos anormales. Es una anomalía cualitativa.

Dentro de la caracterización morfológica de las leucoplasias orales cabe diferenciar dos tipos o formas:

**1.6.1 Leucoplasias orales sin displasia.** En las leucoplasias orales sin displasia existe una asociación variable de hiperqueratosis (orto o paraqueratosis) y acantosis epitelial.

**1.6.2 Leucoplasias orales con displasia.** Las leucoplasias displásicas se clasifican actualmente de bajo grado o de alto grado (aunque cabe mencionar que tradicionalmente se han descrito como leves, moderadas y graves; en la literatura las podemos encontrar con esta clasificación). El calificar una displasia como una u otra forma depende de la presencia de un mayor o menor número de anomalías atípicas en el epitelio. La evaluación de la displasia epitelial debe valorar, de un lado, el número de alteraciones o anomalías morfológicas presentes y, de otro, la situación de éstas en estratos superficiales, intermedios o profundos del epitelio<sup>27</sup>.

Por definición, el término de displasia hace referencia al crecimiento desordenado del epitelio. Según Escribano y Bascones (2009)<sup>25</sup> los criterios utilizados para hacer un diagnóstico de displasia epitelial son:

- Pérdida de la polaridad de las células del estrato basal.
- Presencia de más de una capa de células basales con aspecto basaloide.
- Aumento de la relación núcleo/citoplasma.
- Papilas en forma de gota.
- Estratificación epitelial irregular.

- Aumento del número de mitosis, con algunas atípicas.
- Células mitóticas anormales en forma.
- Presencia de mitosis en la mitad superior del epitelio.
- Pleomorfismo celular y nuclear.
- Hiperchromatismo nuclear.
- Nucléolos aumentados.
- Pérdida de la cohesión celular.
- Queratinización de células aisladas o en grupo.

El porcentaje de leucoplasias orales con displasia varía en gran manera en la literatura científica. Las leucoplasias con displasia podrían suponer entre un 6-23%<sup>25</sup>.

Aunque existe debate en el porcentaje, la mayoría de los estudios concluyen que las leucoplasias orales que muestran displasia epitelial de alto grado presentan una mayor probabilidad de que se desarrolle un carcinoma oral que aquellas que presentan displasia epitelial de bajo grado<sup>5 24 26 40 41</sup>. El metaanálisis de los artículos publicados realizado recientemente por Iocca y cols. (2020)<sup>36</sup> muestra que la displasia moderada/grave se asocia significativamente a un riesgo mucho mayor de transformación maligna en comparación con la displasia leve, con una odds ratio de 2,4. La displasia leve tuvo una transformación maligna anual del 1,7%, mientras que la displasia grave del 3,57%.

Se puede concluir que la presencia de displasia histológica, independientemente del grado histológico, se considera un importante predictor de transformación maligna de leucoplasia oral. Ante esta afirmación, se deben tener tres consideraciones:

- 1) La displasia epitelial no progresa necesariamente a carcinoma de células escamosas en todos los casos.
- 2) La ausencia de displasia histológica no descarta la posibilidad de una transformación maligna de la leucoplasia oral.
- 3) La displasia moderada/grave conlleva un riesgo mucho mayor de evolución del cáncer que la displasia leve.

## 1.7 BIOMARCADORES MOLECULARES

Los datos reconocidos para la transformación en una lesión maligna son la forma de presentación clínica y el grado de displasia<sup>3</sup>, que sólo se puede diagnosticar con una biopsia del tejido sospechoso, con los inconvenientes que conlleva debido al carácter invasivo de la técnica<sup>42</sup>. Por ello, es necesario la búsqueda de nuevas herramientas de diagnóstico que sean menos invasivas y que puedan proporcionar biomarcadores moleculares para evaluar la progresión de la lesión e identificar aquellas que tengan un riesgo aumentado de poder desarrollar un evento oncológico. Las biopsias líquidas (saliva, sangre, orina) o mínimamente invasivas (cepillado de la mucosa) son las alternativas más atractivas y prometedoras y pueden ayudar al seguimiento y screening de los OPMDs<sup>43</sup>.

La persistencia de múltiples alteraciones genéticas en las lesiones orales conducen al desarrollo de cambios celulares tempranos asociados con la génesis del cáncer. La predicción clínica de su progresión es extremadamente difícil ya que estas alteraciones pueden llevar a diferentes estadios: progresión, eliminación, persistencia o transformación. No obstante, varios estudios han delineado un amplio perfil de biomarcadores moleculares asociados con la progresión fenotípica de las lesiones displásicas de la cavidad oral de la cavidad oral<sup>44, 45</sup>.

Desde un punto de vista clínico, las leucoplasias orales son placas blancas de la mucosa oral que en ocasiones se acompañan de alteraciones en el epitelio adyacente con aspecto absolutamente normal y que tienen una extensión variable. El diagnóstico de estas lesiones de apariencia normal solo podría hacerse por el análisis molecular de marcadores que *a priori* se conoce que están implicados en el proceso de transformación maligna. Los hallazgos de cambios moleculares en los márgenes de resección del carcinoma oral de células escamosas, en ausencia de evidencia histopatológica de tumor, por ejemplo, pueden explicar las recidivas en márgenes aparentemente negativos<sup>5, 40</sup>.

Los marcadores mejor caracterizados para determinar el futuro y el desarrollo del cáncer en las lesiones premalignas orales se pueden dividir en:

- Marcadores genómicos, incluyendo el contenido de ADN (ploidía, cantidad de cromosomas que tiene una célula), aberraciones cromosómicas (pérdida o ganancia alélica, sobre todo en los brazos 3p y 9p) y los cambios en la expresión de oncogenes y genes supresores de tumor (p53).

- Marcadores de proliferación.
- Marcadores de diferenciación (queratinas y antígenos de carbohidratos).

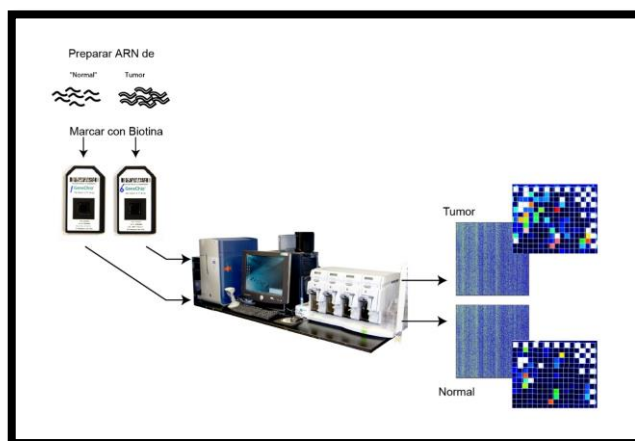
Sin embargo, como conclusión en la Guía de Práctica Clínica de la Leucoplasia Oral (2017)<sup>5</sup>, se obtiene que no hay un consenso adecuado sobre cual ha de ser el marcador molecular predictivo ideal para la evaluación del riesgo de evolución a cáncer de la leucoplasia oral. Muchos estudios de los últimos años van hacia esa dirección, asegurando que además de las anomalías globales del ADN y la pérdida localizada de regiones cromosómicas, algunas de las alteraciones más notables son las mutaciones en el p53, la metilación del p16 y sobreexpresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico, clase I fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K) y ciclinas D1 y B<sup>16</sup>.

### **1.7.1 Microarray**

Con el uso de la tecnología de microarray, se pueden observar los cambios de expresión de miles de genes simultáneamente y con ellos encontrar posibles biomarcadores moleculares que nos hagan diferenciar si una lesión tiene mayor o menor riesgo de transformación maligna<sup>46</sup>.

Los microarrays son una tecnología que permite la detección de moléculas de ADN o ARN por hibridación o adherencia de las moléculas en cuestión en un portaobjetos de vidrio, y detección del ADN o ARN adherido mediante diferentes etiquetas o colores que les permiten ser detectados al microscopio. Una muestra que contiene ADN o ARN se pone en contacto con el chip y el apareamiento de las bases complementarias entre la muestra y las secuencias de genes en el chip produce una cantidad de luz que es la que se mide (Fig. 1.3).

**Fig. 1.3. Ilustración de la tecnología con microarray. Ilustración de National Human Genome Research Institute (<https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Tecnologia-de-microarrays>).**



Desafortunadamente hasta ahora no está claro cómo las leucoplasias orales se convierten en cáncer oral. Predecir el riesgo de progresión de la leucoplasia al carcinoma oral de células escamosas es el reto de estos biomarcadores moleculares.

Está en continuo estudio cómo las alteraciones en la expresión de los genes y de otros componentes clave en la regulación epigenética como los microARN (miRNAs) pueden comprometer la estabilidad genómica y activar distintas rutas de señalización implicadas en procesos clave celulares, como son los procesos precancerosos y carcinogénicos<sup>47, 42, 48, 49</sup>.

Los micro-ARN (miARN) son uno de los componentes importantes de los ácidos nucleicos libres de células disponibles en diferentes fluidos corporales. La identificación de estos biomarcadores no invasivos para determinar la progresión y la recurrencia del cáncer podría ser de inmensa ayuda para los pacientes, ya que se ha descubierto que una serie de miARN circulantes son comunes en los fluidos corporales de los pacientes con cáncer. Siguen en estudio al interferir muchas variables como las diferencias en el procesamiento de las muestras, el procedimiento de ensayo, el estadio clínico de la enfermedad, los hábitos orales y los factores ambientales.

Varios estudios sugieren la importancia pronóstica y terapéutica de estos miRNAs y han tratado de identificar y medir alteraciones en la expresión de genes y miRNAs en OPMDs para correlacionarlo con la progresión a cáncer oral<sup>42, 46, 49, 50</sup>. Se describe que mir-371, mir-150, mir-21 y mir-7d son posibles marcadores de pronóstico, mientras que mir-134, mir-146a, mir-338 y mir-371 se asociaban con las metástasis. Los marcadores pronósticos mir-21 y mir-7d también se correlacionan significativamente con la resistencia a la quimioterapia, mientras que mir-375, mir-196 y mir-125b se correlacionan significativamente con la sensibilidad a la radioterapia<sup>42</sup>. A pesar de las prometedoras funciones de los miRNAs, aún queda por desentrañar la regulación exacta de estos miRNAs antes de utilizarlos para la terapia dirigida.

En cuanto a las alteraciones cromosómicas y cambios en la expresión genética, se está estudiando cómo los perfiles genómicos y transcriptómicos de la leucoplasia se asemejan a los observados en los estadios posteriores del carcinoma oral de células escamosas. En el artículo de Bhosale y cols. (2017)<sup>49</sup>, se presentan varios cambios que están asociados a esta progresión, incluyendo la amplificación (duplicación) de 8q24.3, la delección (pérdida de un fragmento de ADN de un cromosoma) de 8p23.2 y la desregulación de



DERL3, EIF5A2, ECT2, HOXC9, HOXC13, MAL, MFAP5 y NELL2. Se identifican alteraciones asociadas a la metástasis, incluyendo amplificaciones de 3p26.3, 8q24.21, 11q22.1, 11q22.3, 1p36.33 (atribuible a MXRA8), 3q26.31 (EIF5A2), 9p24.1 (CD274), 12q13.2 (HOXC9 y HOXC13) y delección de 8p23.2. En general, los hallazgos delimitan cambios genómicos que pueden ser utilizados en el manejo del tratamiento para pacientes con leucoplasia oral y pacientes de carcinoma oral de células escamosas con mayor riesgo de metástasis en los ganglios linfáticos.

Muchos son los avances en el campo de los biomarcadores moleculares pero, como hemos descrito anteriormente, actualmente no hay unos marcadores de referencia que permitan identificar el riesgo potencial de carcinogénesis de una lesión. En la revisión sistemática del VII Taller Mundial de Medicina Oral (2021)<sup>51</sup>, se ha intentado describir los biomarcadores moleculares pronósticos en la leucoplasia oral y en la leucoplasia verrugosa proliferativa. Tras evaluar 109 biomarcadores moleculares únicos en muestras de tejido de 2.762 casos, no hubo evidencia para apoyar los biomarcadores candidatos predictivos de la transformación maligna de leucoplasia oral y leucoplasia verrugosa proliferativa.

## **1.8 TRATAMIENTO DE LA LEUCOPLASIA ORAL**

El tratamiento de la leucoplasia oral es controvertido. Por lo general, las lesiones de leucoplasia oral son asintomáticas por lo que no conllevan una molestia para el paciente. Conseguir un diagnóstico precoz de los cánceres que aparezcan sobre estas lesiones es el objetivo principal. Como objetivos secundarios en el tratamiento encontramos la desaparición de las lesiones o su reducción de tamaño, el cambio de aspecto clínico y/o la modificación histológica.

Tradicionalmente el tratamiento de las leucoplasias orales se ha abordado mediante diferentes métodos, principalmente divididos en los tratamientos no quirúrgicos o tratamientos médicos y en los tratamientos quirúrgicos.

Antes de exponer los diferentes métodos de tratamiento, tiene especial relevancia un paso previo al tratamiento en sí:

### **1.8.1 Modificación de hábitos del paciente**

Consiste en actuar sobre los factores etiológicos desencadenantes o asociados a la leucoplasia oral. Los microtraumatismos mecánicos que puedan estar relacionados con la lesión deben eliminarse.

Se recomienda el pulido de superficies dentarias rugosas, colocación de coronas con cúspides lo más redondeadas posibles, y hasta la posible extracción de las piezas dentarias que estén en relación directa con la leucoplasia oral, sobre todo en el caso de cordales. En el caso de las prótesis mal ajustadas, es necesario modificarlas o hacer nuevas prótesis si no fuera posible la remodelación correcta. Así mismo, se recomienda descartar la existencia de corrientes electrogalvánicas por prótesis o reconstrucciones de amalgamas de plata.

Si el paciente es fumador y/o consumidor habitual de bebidas alcohólicas se le recomendará que abandone estos hábitos. Muchas leucoplasias orales mejoran sólo con estas medidas, aunque la remisión suele ser lenta y en ocasiones no completa<sup>27,25</sup>.

### **1.8.2 Tratamiento médico**

Los principales tratamientos médicos utilizados en la leucoplasia oral han sido:

**1.8.2.1 Beta-caroteno (precursor de vit. A):** administración sistémica. En los diferentes estudios clínicos se encuentra una mejoría clínica considerable aunque no hay evidencias suficientes de que reduzcan la capacidad de transformación maligna<sup>27,5</sup>.

**1.8.2.2 Licopeno.** El uso y dosis de licopeno está relacionado con una mejoría en el aspecto clínico (tamaño) y el grado histológico de las lesiones<sup>52</sup>. La administración de licopeno sistémico puede ayudar a resolver la displasia, pero la evidencia es inadecuada dada la falta de estudios a largo plazo<sup>24</sup>.

**1.8.2.3 Ácido ascórbico (vit. C).** No existen estudios que analicen el efecto del ácido ascórbico únicamente en el tratamiento de la leucoplasia oral, pero sí en su asociación con beta-carotenos, no siendo eficaz en dicho tratamiento<sup>5</sup>.

**1.8.2.4 Vitamina A y derivados (retinoides) o análogos que tienen la capacidad de actuar como la vit A.** Es el tratamiento médico más descrito por

artículos. Su acción se basa en la capacidad que tienen para inhibir la proliferación epitelial y la queratinización<sup>5</sup>.

#### Vitamina A:

Se necesitan dosis elevadas vía oral para obtener alguna eficacia (100.000-300.000 U/día), con las que se manifiestan efectos secundarios importantes (exantema, sequedad de piel, prurito, etc.) además de tener un alto potencial carcinogénico. El segundo inconveniente estudiado en su administración es el elevado porcentaje de recidivas tras finalizar el tratamiento (38-55% de los casos)<sup>25</sup>.

#### Ácido 13 cis-retinoico (isotretinoína):

Se ha mostrado eficaz a dosis bajas y con menos toxicidad que la vitamina A. La dosis inicial de tratamiento es de 0,2 mg/kg/día durante 3 meses y se va aumentando. Los efectos secundarios asociados a su administración son alteraciones cutáneas, mucosas, hematológicas (aumento de la concentración de triglicéridos y colesterol) y hepatotóxicas. No se debe superar la cantidad de 0,8mg/kg/día si se administra durante largos períodos de tiempo. Debido a su teratogenicidad, se recomienda utilizar anticoncepción eficaz durante el tratamiento. También se puede aplicar en pomadas en orabase al 0,1%, colocándose las al paciente tres a cuatro veces al día sobre la lesión<sup>27, 25</sup>.

#### Etretinato:

Se emplea pautado de 1-1,5 mg/kg/día en 3 tomas, durante 3-4 meses. A dosis de 30 mg/día durante 3-6 meses se han obtenido buenos resultados, observándose mejorías en el 70% de los casos. Como efectos secundarios encontramos prurito, sequedad de mucosas y alopecia, además de ser hepatotóxico<sup>27, 25</sup>.

#### Fenretinida (4-HPR):

Es un retinoide sintético que se ha utilizado como quimioprevención asociada al tratamiento quirúrgico. A dosis de 200 mg/4 veces al día es eficaz en la prevención de recidivas y de nuevas lesiones<sup>25</sup>.

La terapia con retinoides sistémicos puede ayudar a resolver la displasia, pero la evidencia de apoyo es inadecuada dada la falta de estudios a largo plazo, junto con la toxicidad de los mismos, se crean dudas sobre su aplicación<sup>24</sup>.

**1.8.2.5 Vitamina E.** Se describe un artículo en el que se ha empleado para el tratamiento de leucoplasias orales en dosis de 800 U/día durante 6-24 meses encontrando mejorías en menos de la mitad de los pacientes del estudio<sup>25</sup>.

**1.8.2.6 Bleomicina.** El sulfato de bleomicina se pauta al 1% en dimetil-sulfóxido. Su aplicación se realiza con torundas de algodón (manteniéndose 5 minutos en contacto) de manera diaria durante 2 semanas<sup>27,25</sup>. Las intervenciones con bleomicina tópica puede ayudar a resolver la displasia, pero la evidencia de apoyo es inadecuada dada la falta de estudios a largo plazo<sup>24</sup>.

**1.8.2.7 Terapia fotodinámica.** Se basa en una reacción fotoquímica en frío que da lugar al daño de diferentes estructuras celulares. Para llevarse a cabo precisa de 3 elementos: un fármaco fotosensibilizante (como azul de toludina), oxígeno y luz de baja potencia<sup>53</sup>. La destrucción del tejido se basa en una oxidación radical. Varios artículos de la última década estudian la eficacia de esta terapia.

En la revisión sistemática de Vorha y cols. (2015)<sup>54</sup> se analizaron 13 estudios de esta terapia en leucoplasias, eritroplasias, eritroleucoplasias e hiperplasias verrugosa dando como conclusión una respuesta efectiva en el tratamiento general de los OPMDs.

Zhang y cols. (2017)<sup>55</sup> describen el tratamiento de un área extensa de leucoplasia oral con terapia fotodinámica combinada con láser de CO<sub>2</sub>, dando como conclusión que la terapia fotodinámica se puede combinar con láser de CO<sub>2</sub> para mejorar la absorción del fotosensibilizador y mejorar la eficacia del tratamiento.

En un artículo de revisión bibliográfica publicado por Lodi y cols. (2004)<sup>52</sup>, ninguno de los tratamientos médicos estudiados demostró ser eficaz para prevenir la transformación maligna de las leucoplasias. Las recidivas son frecuentes aunque algunos de los tratamientos son efectivos en la curación de las lesiones. Por esta razón, la curación clínica de la leucoplasia oral después de uno de estos tratamientos no libera al clínico del deber del seguimiento regular.

Igualmente, para la Guía de Práctica Clínica de la leucoplasia oral (2017)<sup>5</sup> no existe ningún tratamiento médico para la leucoplasia oral que haya demostrado reducir la tasa de transformación maligna, aunque si se han demostrado cierto grado de efectividad en relación a la mejora clínica de las lesiones de leucoplasia

oral, sobre todo los retinoides, vit A y terapia fotodinámica.

### **1.8.3 Tratamiento quirúrgico**

Entre los tratamientos quirúrgicos, existen diferentes técnicas:

- a. Escisión quirúrgica con bisturí frío.**
- b. Electrocoagulación.**
- c. Criocirugía:** destrucción selectiva de los tejidos mediante temperaturas de congelación.
- d. Eliminación con Láser:**
  - **Láser de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)** a modo de escisión o vaporización: longitud de onda de 10600 nm.
  - **Láser de Nd:YAG:** longitud de onda 1064 nm.
  - **Láser KTP:** longitud de onda 532nm.
  - **Crioterapia Láser de Er:YAG:** longitud de onda 2940nm.

En la escisión quirúrgica de las leucoplasias orales, independientemente de la técnica empleada, las áreas fuera de la manifestación clínica visible, aunque clínicamente normales, pueden contener clones de células estigmatizadas con cáncer. Como consecuencia, se debe considerar la extensión de la resección más allá de los límites de la manifestación clínica. La visualización con fluorescencia puede ser beneficiosa para la identificación de estos cambios en la mucosa clínicamente normal alrededor de la manifestación clínica propia de la leucoplasia<sup>56</sup>.

Las dos técnicas quirúrgicas más utilizadas en el tratamiento de la leucoplasia oral son la escisión quirúrgica con bisturí frío y el láser en sus diferentes modalidades. Es muy importante conocer sus indicaciones y limitaciones. La elección de la técnica depende del estado general del paciente, el tamaño y localización de la lesión<sup>5</sup>.

La ventaja principal del uso del bisturí frío es que en la misma cirugía de eliminación de la lesión se puede realizar el estudio histológico de la muestra. Como inconvenientes encontramos que en lesiones muy extensas puede producir una alta morbilidad, formación de cicatrices y daño de estructuras adyacentes<sup>5</sup>. Estará contraindicada en lesiones extensas o en ciertas localizaciones anatómicas de difícil abordaje.

La criocirugía y la vaporización con láser de CO<sub>2</sub> no permiten realizar el estudio histológico de la muestra, teniendo que realizar dos intervenciones quirúrgicas: una biopsia previa para el estudio histopatológico y el propio tratamiento de la lesión. La ventaja fundamental de la crioterapia es la escasa profundidad de tratamiento, lo que supone la aparición de cicatrices más superficiales y flexibles<sup>25</sup>; y de la vaporización con láser es que produce menos distorsión tisular por su cicatrización por segunda intención, estando indicada en lesiones amplias o en las situadas en localizaciones anatómicas de difícil abordaje.<sup>5</sup>

El láser de CO<sub>2</sub> es un láser de gas que utiliza para su emisión una descarga eléctrica que excita una mezcla de helio, nitrógeno y CO<sub>2</sub> contenida en un tubo de cuarzo. Las moléculas excitadas de nitrógeno emiten fotones que, por colisión, transmiten su energía a las moléculas de CO<sub>2</sub>; éstas darán lugar a la emisión estimulada de fotones que, tras una serie de transiciones entre varios estados moleculares, formarán el haz final de luz láser. Esta luz es no visible (10600nm normalmente) al tener su longitud de onda dentro del espectro infrarrojo y suele ir acompañada de un segundo láser de He-Ne de 2mW, que emite una luz de color rojo visible. Este segundo láser ayuda al clínico a ver el punto de impacto y constituye el rayo guía<sup>57</sup>.

La generación de calor produce el efecto tisular, que pueda dar como resultado un pequeño aumento de la temperatura o bien la carbonización, fusión o vaporización del tejido donde incide el láser. La acción sobre los tejidos se producirá en dos tiempos. En el primero, la energía óptica se convierte en energía de vibración de las moléculas que absorben la radiación. En el segundo, esta energía se transforma en energía de translación, la cual, se acompaña de un aumento de la temperatura muy focalizado y de la consiguiente descomposición química. El rayo láser de CO<sub>2</sub> es totalmente absorbido por el agua, por lo que es poco penetrante en los tejidos bucales, incluso en tejidos de poco espesor. Así, cuando sometemos un tejido hidratado a un haz de luz láser de CO<sub>2</sub>, se produce una evaporación del agua, seguida de una desnaturalización celular y de un efecto de corte<sup>57</sup>.

Hay tres tipos principales de láseres de CO<sub>2</sub>:

- De flujo axial
- De flujo transversal
- De tubo sellado: son los usados en las diferentes ramas de la medicina y odontología. Su potencia varía desde unos pocos vatios a alrededor de 100W y la

energía liberada puede ser de forma de onda continua o en pulsos discontinuos.

En odontología, el láser de CO<sub>2</sub> destaca por sus aplicaciones en el ámbito de la cirugía de los tejidos blandos ya que permiten una cirugía rápida y cómoda para el profesional y unas molestias postoperatorias mínimas para el paciente. Su uso no está exento de riesgos, y el odontólogo especializado en cirugía bucal debe poseer los conocimientos y las habilidades pertinentes para su utilización<sup>57</sup>. También ha sido estudiado en otras disciplinas como la odontología conservadora y la endodoncia.

El láser de CO<sub>2</sub> nos permite dos tipos fundamentales de acciones sobre los tejidos blandos: el corte y la vaporización. Se trata de efectos que dependerán fundamentalmente de la focalización del haz de luz.

- Cuando el haz está focalizado, el área sobre la que actúa se reducirá a un punto, permitiendo una incisión fina. Su uso es en exéresis completas de lesiones en tejidos blandos y para biopsias, evitando el efecto térmico para facilitar el estudio anatomopatológico de la muestra.
- Cuando el haz está desfocalizado, el área irradiada será mayor y se producirá la vaporización del tejido. Su uso es en exéresis de lesiones amplias que ya tienen un estudio histopatológico<sup>58</sup>.

Según las recomendaciones de Escribano y Bascones (2009)<sup>25</sup> el láser de CO<sub>2</sub> se utiliza a diferentes potencias:

- Entre 5-8 W focalizado o desfocalizado en las leucoplasias homogéneas.
- Entre 10-15 W focalizado en las leucoplasias verrugosas.
- Entre 20-25 W focalizado en las leucoplasias con formas erosivas.

Entre las modalidades terapéuticas invasivas, la criocirugía, la aplicación de luz láser de CO<sub>2</sub> y la resección quirúrgica, parecen ser las únicas opciones con un nivel aceptable de evidencia para el control local a corto plazo de la leucoplasia oral. A largo plazo, existe una alta tasa de fracaso terapéutico, con recurrencia local e incluso, en algunos casos, desarrollo de carcinoma de células escamosas en el sitio de resección.

Para Martorell y cols.<sup>24</sup>, si el enfoque terapéutico se basa en si existe displasia o no, se han definido dos grupos de riesgo:

1. Grupo con bajo riesgo de transformación maligna: leucoplasias sin displasia y leucoplasias con displasia leve localizada en áreas de bajo riesgo y/o con un grosor

inferior a 200mm que presentan clínicamente una leucoplasia homogénea. Se recomiendan varios enfoques terapéuticos en este grupo:

- a. Seguimiento regular del paciente sin exceder los 12 meses.
- b. Tratamiento de lesiones con retinoides tópicos u orales. La experiencia en el uso de esta opción terapéutica les resulta bastante insatisfactoria ya que las lesiones no se erradican en la gran mayoría de los pacientes.
- c. Tratamientos de lesiones con crioterapia o láser de CO<sub>2</sub>. De estas opciones, el uso de luz láser muestra mejores resultados en términos de control de las lesiones, por lo que lo consideran el tratamiento de elección en este grupo de bajo riesgo.

2. Grupo de alto riesgo de transformación maligna: leucoplasias con displasia leve localizadas en áreas de alto riesgo que miden más de 200mm, leucoplasias no homogéneas, leucoplasias con displasia moderada o grave y leucoplasias verrugosas.

- a. Tratamiento quirúrgico agresivo. Decorticación de todo el grosor de la mucosa en el sitio de la leucoplasia oral. Posteriormente, examen histológico meticuloso de la pieza quirúrgica para descartar áreas existentes de transformación maligna.

## **1.9 QUIMIOPREVENCIÓN**

En cada vez más estudios se está proponiendo el estudio de la leucoplasia oral mediante técnicas de biología molecular para predecir el riesgo de desarrollar carcinoma de células escamosas en áreas inicialmente no afectadas de la cavidad oral y establecer un cronograma de seguimiento individual de acuerdo con las características de cada paciente.

La quimiopreención se refiere al uso de agentes farmacológicos o naturales que inhiben el desarrollo del cáncer invasivo. Esta función se puede lograr bloqueando el daño al ADN que inicia el proceso carcinogénico o induciendo la apoptosis de células premalignas en las que el daño ya ha ocurrido. Los objetivos posibles de la terapia molecular para prevenir el cáncer oral incluyen la COX-2, EGFR y receptor activado por proliferación de peroxisoma (PPAR-g)<sup>24, 59</sup>.

La modulación inmune juega un papel crítico en la carcinogénesis oral<sup>60</sup>. Existen avances en inmunooncología que demuestran la eficacia de los inhibidores de puntos de control



inmunitarios dirigidos al eje de la proteína de muerte celular programada-1 (PD-1) en el carcinoma de células escamosas avanzado de la cabeza y el cuello<sup>61</sup>. En el estudio de Yagyu y cols. (2017)<sup>62</sup> se muestra que casi el 50% de las leucoplasias orales de alto grado eran positivas al ligando de PD-1 (PD-L1).

### **1.10 EVOLUCIÓN Y SEGUIMIENTO DE LA LEUCOPLASIA ORAL.**

De acuerdo con diferentes autores<sup>5, 24, 25, 56, 12, 63</sup>, las estrategias actuales para el tratamiento de la leucoplasia oral incluyen la cirugía, un tratamiento médico y un seguimiento y evaluación de las posibles recidivas que acontezcan, donde el objetivo final es un diagnóstico precoz de una posible transformación maligna.

Los principales pasos que conducen al desarrollo del cáncer incluyen una fase de ruptura, una fase de expansión y una fase invasiva. Durante la fase de ruptura, se produce una mutación muy específica y la célula comienza a dividirse de forma anormal. La lesión sólo se hace visible al cabo de unos años. En la segunda fase, se desarrolla una mutación adicional del gen conductor que da lugar al tumor. Finalmente, durante la tercera fase, el tumor invade los tejidos circundantes. Las leucoplasias orales pueden compartir algunas de las mismas mutaciones de genes conductores observadas en el cáncer oral y que lleven una inestabilidad cromosómica similar, como la pérdida de heterocigosidad, la aneuploidía del ADN y la disfunción de la telomerasa, que se han asociado a la transformación maligna<sup>64, 65</sup>.

Todas las tasas de transformación maligna estudiadas en las distintas revisiones de la literatura, junto a las posibles mutaciones de genes que pueda llevar la leucoplasia oral, nos llevan hacia el reconocimiento de unas pautas de reevaluación clínica de las leucoplasias orales, hayan sido o no tratadas:

- Cada 6-12 meses: leucoplasia oral sin displasia. El paciente debe conocer la importancia de las modificaciones de la lesión (engrosamiento, sangrado, ulceración, incremento de tamaño...) y adelantar las revisiones en esos casos.
- Cada 2-6 meses: leucoplasias orales con displasia.
- Deben practicarse biopsias periódicas si se producen cambios clínicos que incrementen la gravedad de la lesión o si persisten hábitos nocivos en el paciente durante este período de seguimiento.



## **II. JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS**

---

Como se ha descrito en el apartado 1 de esta tesis, la leucoplasia oral es la entidad más comúnmente encontrada en la práctica clínica dentro de las lesiones orales. En la Unidad Docente de Medicina Bucal de la Universidad de Murcia se viene haciendo seguimiento y tratamiento de estas lesiones desde sus inicios y comprobando que esa frecuencia de aparición también se da en los casos derivados a este departamento. Tal es la tasa de frecuencia que se llegó a la conclusión de la necesidad de un estudio profundo de los parámetros que pueden influenciar en su evolución y de la necesidad de un protocolo de actuación frente a esta lesión.

No sólo preocupa al clínico la presencia en sí de la lesión, ya que no suele estar acompañada de sintomatología, sino que además es la lesión potencialmente maligna más frecuente de la cavidad oral, representando el 85% de dichas lesiones<sup>9</sup>. La preocupación del odontólogo va acompañada de la del propio paciente, que en ocasiones es muy elevada y se tiene que enfrentar a la ansiedad que le provoca la posible transformación a un cáncer oral aunque sea en un pequeño porcentaje. El tratamiento de la lesión le aporta al paciente una tranquilidad previa, en la cual hay que ser muy meticulosos y explicar muy bien la posible recidiva de la lesión como se ha explicado anteriormente.

La forma planteada para alcanzar los objetivos ha sido establecer las hipótesis de trabajo y desarrollar una metodología para comprobar estas hipótesis previas:

- Hipótesis nula: no hay mejora en la lesión de leucoplasia oral tras el tratamiento con láser de dióxido de carbono.
- Hipótesis 1: las manifestaciones clínicas de la leucoplasia oral interfieren en el tratamiento y en la recidiva de la lesión.
- Hipótesis 2: el tratamiento por vaporización de la leucoplasia oral con láser de dióxido de carbono es un tratamiento eficaz y fiable.
- Hipótesis 3: el tratamiento por vaporización de la leucoplasia oral con láser de dióxido de carbono no conlleva un postoperatorio grave y el acto quirúrgico está justificado frente a los beneficios del propio tratamiento.
- Hipótesis 4: existe la posibilidad de encontrar diferencias en la expresión génica de las lesiones de leucoplasia oral.

- Hipótesis 5: es posible evaluar y clasificar los marcadores genéticos que puedan determinar la posible transformación a carcinoma de una leucoplasia oral.

### **III. OBJETIVOS DE LA TESIS**

---

La presente tesis tiene un objetivo general, dos objetivos específicos de primer nivel, dos objetivos de primer nivel y cinco objetivos de segundo nivel.

- El **objetivo general** de estudio es valorar la evolución en todos sus niveles de la leucoplasia oral sometida a tratamiento. Este objetivo general se concreta en diversos objetivos específicos que constituyen todo el conjunto de este estudio:
  
- **Objetivos específicos de primer nivel:**
  1. Estudiar y exponer los parámetros clínico-patológicos de la leucoplasia oral y de cómo pueden influir en el tratamiento y evolución de esta entidad patológica.
  2. Tratamiento en sí de la leucoplasia oral mediante vaporización con láser de dióxido de carbono.
  
- **Objetivos específicos de segundo nivel:**
  1. Valorar la eficacia del tratamiento con láser de CO<sub>2</sub> en la leucoplasia oral.
  2. Analizar la tasa de recidiva de las lesiones de leucoplasia oral a los 18 meses de la vaporización y mostrar la relación existente entre los parámetros clínico-patológicos de la misma.
  3. Buscar diferencias en la expresión génica de las lesiones de leucoplasia oral y clasificar marcadores genéticos que puedan determinar la posible transformación maligna a carcinoma oral.
  4. Evaluar y corroborar la tasa de transformación maligna de la leucoplasia oral a carcinoma oral.



## **IV. MATERIAL Y MÉTODOS**

---

El estudio fue realizado en la Clínica Odontológica Universitaria del Hospital Morales Meseguer de Murcia, concretamente en la Unidad Docente de Medicina Bucal, durante el periodo comprendido entre febrero de 2017 y julio de 2021.

Consiste en un estudio clínico experimental, en el cual se incluyeron a 39 pacientes consecutivos con un total de 53 leucoplasias orales. El criterio de inclusión para todos los pertenecientes a la muestra fue la presencia de una lesión en la mucosa oral con signos clínicos e histopatológicos compatibles con leucoplasia oral y que firmaran el consentimiento informado. Se excluyeron pacientes con diagnóstico inicial de carcinoma oral de células escamosas, eritroleucoplasia o leucoplasia verrugosa proliferativa.

Para la realización del estudio ha sido necesaria la aprobación por parte de la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia (ID: 2225/2018) (Anexo 1 ) y del Comité de Bioseguridad en Experimentación de la Universidad de Murcia (ID: CBE 181/2018) (Anexo 2).

En el estudio se pidió el consentimiento informado, por oral y por escrito, a todos los pacientes (Anexo 3). Se explicó a los pacientes las consecuencias y los beneficios del tratamiento quirúrgico y los límites encontrados previamente en estos tratamientos en cuanto a la recidiva de las lesiones (Anexo 4). Así mismo, se realizó una biopsia incisional previa de todas las lesiones para obtener un diagnóstico histopatológico definitivo. Las biopsias fueron analizadas en el mismo laboratorio.

### **4.1. Anamnesis, historia clínica y eliminación de factores de riesgo:**

Antes de la intervención de cada paciente se realizó una historia clínica específica para este estudio (Anexo 5). Comenzamos por una encuesta sobre los datos generales de los pacientes y de sus enfermedades y/o fármacos. Seguidamente se identificaron los posibles factores etiológicos: el consumo de tabaco, ingesta de alcohol, índice de masa corporal, colutorios lesivos, higiene bucal, presencia de infecciones asociadas y registro de posibles parafunciones. También se recopiló la presencia de prótesis dentales, tanto fijas como removibles, y de implantes dentales.

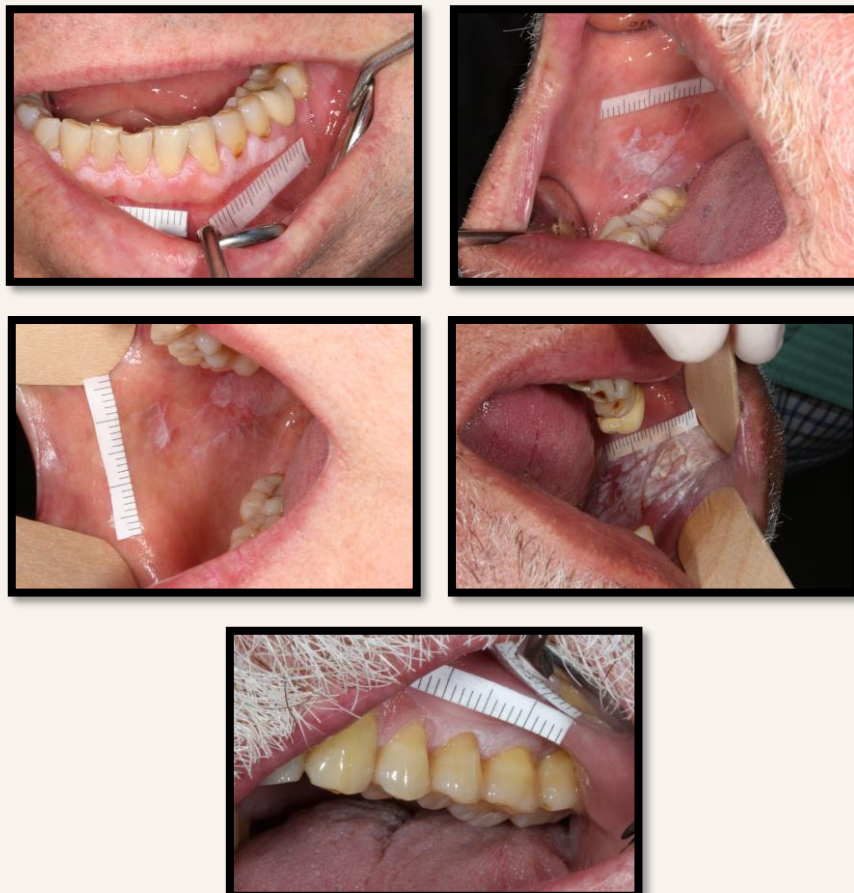
El segundo apartado importante de la historia clínica es la descripción de la leucoplasia. En él se tomaron datos como inicio aproximado de la lesión, forma clínica, localización, tipo de mucosa, tamaño e histopatología al recibir los resultados de la biopsia de confirmación de leucoplasia oral. También se tomó importancia a la posible presencia de otras lesiones en otras localizaciones orales.

Se dieron consejos sobre la eliminación de factores de riesgo antes del tratamiento quirúrgico. Así mismo, se alisaron las posibles zonas traumáticas tanto de dientes y/o prótesis adyacentes a las lesiones. En el caso de requerir profilaxis antibiótica, se recetó amoxicilina 2g/1h antes de la intervención quirúrgica.

#### **4.2. Registro fotográfico de la lesión:**

A todas las lesiones se les realizaron registros fotográficos iniciales. Las fotografías se hicieron colocando una tira milimétrica junto a las leucoplasias orales para tener referencia del tamaño de las mismas. Estas fotografías se repitieron en las sucesivas citas de revisión (Fig. 4.1).

***Fig.4.1. Registro fotográfico de las leucoplasias orales.***

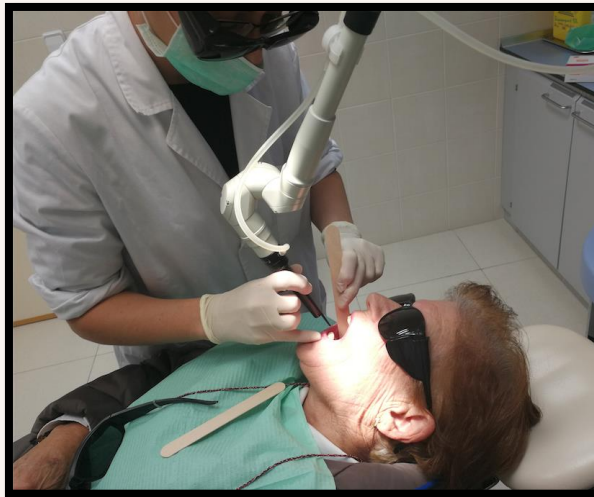




### **4.3. Tratamiento con láser de CO<sub>2</sub> de la leucoplasia oral:**

En cuanto a medidas de seguridad se refiere, tanto europeas (ISO) como norteamericanas (ANSI), el láser de CO<sub>2</sub> es un láser de clase IV en el que se requieren máximas medidas de seguridad. Pertenecen a esta clase todos aquellos láseres cuyo rendimiento continuo de potencia esté sobre los 0,5W<sup>57</sup>. Por esta recomendación, en nuestro estudio, tanto como el personal de operación como los pacientes siguieron las normas de seguridad apropiadas para el uso del láser: gafas de protección, acceso limitado al área quirúrgica y uso de depresores linguales de madera como método de separación y protección de tejidos (Fig. 4.2).

*Fig. 4.2. Medidas de protección durante el uso del láser de CO<sub>2</sub>.*



En todos los pacientes se realizó el procedimiento quirúrgico con anestesia local (articaina 4% con epinefrina 1:100000 como primera elección y mepivacaina 3% si el vasoconstrictor estaba contraindicado).

A los pacientes se les pidió que realizaran un enjuague con clorexidina 0,2% previo a la intervención como método profiláctico. El tratamiento quirúrgico para extirpar las lesiones en todos los casos fue con láser de CO<sub>2</sub> (Lasersat 20W, Satelec®, Pierre Rolland, SATELEC®, S.A., Barcelona, España) (Fig. 4.3) en modo continuo, con una distancia de 10mm aprox. del foco a la lesión, en intervalos de 5-10 segundos aproximadamente (Fig. 4.4).

**Fig. 4.3. Máquina de láser de CO<sub>2</sub> utilizada en el estudio (Lasersat 20W, Satelec®, Pierre Rolland, SATELEC®, S.A., Barcelona, España).**



Para la decidir la potencia del láser CO<sub>2</sub> nos basamos en alguno de los estudios publicados de tratamiento de las leucoplasias con láser el año de comenzar nuestro estudio, como el de Monteiro y cols.<sup>66</sup> que usa una potencia de 5-10W, y Galleta y cols.<sup>67</sup> que usa una potencia de 5W. Se dividió a las lesiones en tres grupos según su localización y se le asignó una potencia de láser de CO<sub>2</sub> específica: (Anexo 6)

**Grupo1: mucosa de revestimiento** (5,5W). Cara interna del labio, mucosa yugal, suelo de la boca, cara inferior de la lengua y paladar blando. Son zonas que no participan directamente en la masticación..

**Grupo 2: mucosa masticatoria** (6W). Encía y paladar duro. Participa de una forma directa en las cargas de la masticación de los alimentos. tiene un epitelio superficial muy fibroso y Es de color rosado pálido. Tiene una consistencia firme y dura a la palpación.

**Grupo 3: mucosa especializada** (6.5W). 2/3 anteriores de la cara dorsal o superficie de la lengua. En ella se encuentran los receptores del gusto.

**Fig. 4.4: Intervención quirúrgica de vaporización de una placa de leucoplasia oral con láser de CO<sub>2</sub>.**



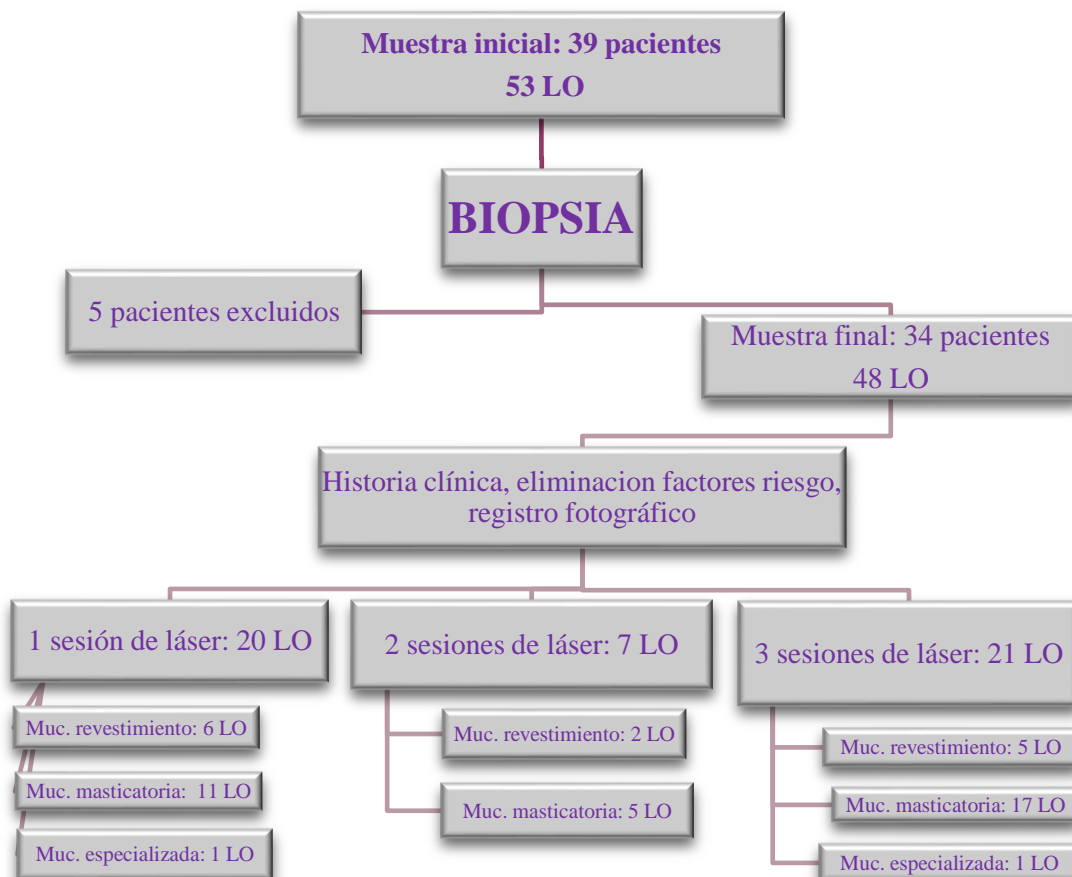
Tras la intervención se colocó una gasa impregnada en clorhexidina 0,2% durante 20 minutos en la herida ocasionada y la regeneración de los tejidos fue por segunda intención.

El volumen de la muestra definitivo fue de 34 pacientes de ambos sexos, con un total de 48 lesiones de leucoplasia oral tratadas y un total de 102 sesiones de vaporización de las lesiones con láser de CO<sub>2</sub> (figura 4.5).

Se facilitaron instrucciones postoperatorias a todos los pacientes, en las que se incluía una aplicación de gel tópico de quitosan-clorexidina 0,2% (Bexident® Post Tratamiento Gel Tópico) 3 veces/día durante 10 días. Todas las instrucciones fueron explicadas de manera verbal y por escrito de manera individual a cada paciente (Anexo 7). Todo el tratamiento y las posteriores citas de revisión y seguimiento fueron realizadas por el mismo operador.

Después de la intervención se prescribieron 600mg de ibuprofeno en caso de dolor, a excepción de los pacientes en los que estuviera contraindicado el uso de este fármaco o se tuviera constancia de alergias, en cuyo caso se recetó un fármaco alternativo.

**Fig. 4.5: Muestra de pacientes y sesiones de vaporización con láser de CO<sub>2</sub> (LO leucoplasia oral).**



#### **4.4. Seguimiento y revisión del tratamiento:**

Se protocolizaron visitas sucesivas: (Anexo 6)

A 1-4 semanas de la intervención:

- Encuesta a los pacientes sobre el grado máximo de dolor e inflamación percibida en una escala del 1 al 10.
- Registro de complicaciones postquirúrgicas.
- Análisis de la cicatrización (leve-moderada-completa) y reepitelización de la herida.

A los 6 meses y a los 12 meses de la intervención:

- Registro fotográfico del tamaño y la forma de la leucoplasia tratada.
- Descripción de la lesión: valoración de la cicatrización y epitelización de la herida
- Valoración de recidiva.
- Realización de un máximo de 3 sesiones de vaporización (sólo hubo 2 casos en las que se consideró necesaria una cuarta vaporización) durante el proceso de tratamiento. La potencia del láser no se modificó en ningún caso. Esta decisión se fue tomando individualizada según los resultados clínicos si la leucoplasia oral no había desaparecido por completo.

A los 18 meses de la primera vaporización:

- Revisión final de la leucoplasia oral y valoración de recidiva.
- Registro fotográfico del tamaño y la forma de la leucoplasia tratada.
- Alta del tratamiento y seguimiento.

#### **4.5. Valoración de recidivas:**

En las visitas control se fue valorando la necesidad de una segunda y tercera sesión de vaporización con el láser de CO<sub>2</sub> si la lesión no había desaparecido por completo, es decir, si se observaban recidivas de la leucoplasia oral. Una vez finalizado el tratamiento con 3 sesiones máximo de vaporización, las leucoplasias fueron clasificadas en 2 grupos:

- No recidiva de la leucoplasia oral. Recuperación total del epitelio sano sin presencia de patología.

➤ Si recidiva de la leucoplasia oral. Este grupo se dividió a su vez en subgrupos por la diferencia de grados en la recuperación tras el tratamiento:

- Recidiva leve: las lesiones han disminuido de tamaño o han mejorado en la forma clínica, pasando de leucoplasia no homogénea a leucoplasia homogénea.
- Recidiva completa: las lesiones no habían mejorado ni en tamaño ni en forma clínica.
- Carcinoma oral: tras una biopsia control y su estudio histopatológico se descubrió la transformación maligna de leucoplasia oral a cáncer. En este caso se procedió a la inmediata derivación del paciente al servicio de maxilofacial y oncología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

En el caso del grupo de leucoplasias orales que han recidivado de forma parcial (recidiva leve) se han analizado las imágenes con el **Programa ImageJ** para obtener mayor información en cuanto al tamaño de las lesiones (Fig. 4.6).



Según afirma Aplicación Java programable para el procesamiento científico de imágenes (s.f.), ImageJ es una aplicación basada en Java para el procesamiento y análisis científico de imágenes. Se ejecuta como un applet en línea o como una aplicación descargable. ImageJ puede mostrar, editar, analizar, procesar, guardar e imprimir imágenes de 8, 16 y

32 bits y es compatible con la mayoría de los formatos más importantes, como TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS y "raw". El principal uso de ImageJ es calcular los valores de área y píxel y medir distancias y ángulos. Permite crear histogramas de densidad y gráficos de perfiles de líneas. También admite otras funciones estándar de procesamiento de imágenes, como la manipulación del contraste, la nitidez, el suavizado, la detección de bordes y el filtrado de la mediana (recuperado de <https://imagej.softonic.com>).

Se ha realizado un análisis del área de cada lesión antes y después del tratamiento. Para esto se realiza un calibrado en cada foto (inicio y fin de tratamiento) y un estudio del área dibujada que corresponde con la leucoplasia oral.

#### **4.6. Estudio de biomarcadores genéticos específicos en la leucoplasia oral**

Se realizó un segundo estudio paralelo con el objetivo de buscar diferencias en la expresión génica de las lesiones de leucoplasia oral respecto a los controles extraídos mediante saliva y exfoliado oral, y así identificar y clasificar biomarcadores genéticos que puedan determinar la posible transformación a cáncer de una lesión.

Consiste en un estudio clínico experimental en el cual se incluyeron a 6 pacientes mujeres no fumadoras. 3 de ellas fueron pacientes que estaban confirmados clínica e histopatológicamente con leucoplasia oral y 3 controles que eran personas sanas de las mismas características de edad y sexo que las pacientes con leucoplasia oral.

El procedimiento de toma de muestras fue el siguiente. Primeramente, se recogió la muestra del exfoliado oral. Para ello, los participantes habían sido previamente avisados de no consumir nada salvo agua los 30 min antes de la recogida de la muestra y previamente a la recogida se enjugaban con agua destilada para eliminar impurezas. Entonces se procedía a frotar con un cepillo la lesión o la mucosa yugal en los pacientes controles unas veinte veces en movimientos circulares. Tras ello, el cepillo era introducido inmediatamente en un tubo con 3 ml de PBS y 2 ml de RNAlater (Sigma Aldrich, España) para mantener la integridad del ARN.

Para la recogida de muestra de saliva, se enjugaban previamente la boca con agua. La saliva sin estimular fue recogida mediante babeo pasivo del paciente durante 3-5 minutos en un tubo con RNAlater, recogiendo como mínimo 1ml de saliva. Las muestras de saliva

y exfoliado de los pacientes eran tomadas en el mismo momento. Todas las muestras fueron congeladas a -80° hasta la posterior extracción del ARN.

La extracción total del ARN de las muestras fue realizada con the RNeasy micro kit Cat. No. 74004 (Qiagen, Valencia, CA, USA) siguiendo las indicaciones del fabricante.

Todas las muestras fueron tratadas con DNase I (Quiagen), tal como decía el protocolo para evitar cualquier contaminación genómica. Las muestras del ARN total obtenido eran alicuotadas y congeladas a -80° hasta su análisis.

La cantidad y calidad del ARN fue comprobado previamente mediante Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies). El ss-cDNA fue sintetizado a partir de 900 pg de cada muestra usando el Genechip 3' IVT Pico Reagent kit (Affymetrix, ThermoFisher Scientific). Posteriormente se comprobó mediante Nanodrop 2000 (ThermoFisher Scientific) la cantidad y calidad del ds-cDNA y el bioanalizador 2100. Los targets de ss-cDNA fueron lavados y después de la fragmentación y terminal labelling, 2.3 µg de ss-cDNA biotinilado y fragmentado fueron incluidos en el mix de hibridación, usando GeneChip® Hybridization, Wash and Stain kit (Affymetrix, ThermoFisher Scientific). Las preparaciones resultantes fueron hibridadas en Human Clariom S Arrays (Affymetrix, ThermoFisher Scientific) (Fig. 4.7) diseñado para cubrir extensamente todos los genes anotados incluyendo más de 337000 transcritos para poder definir el nivel de expresión de más de 20800 genes del transcriptoma humano. Tras el escaneo, los datos del microarray fueron procesados usando Affymetrix Expression Command Console (Affymetrix, ThermoFisher Scientific) y todas las muestras cumplieron con el criterio de calidad.

Se usó el RMA (Robust Multiarray Average) para analizar los datos obtenidos. Los valores de intensidad en crudo fueron corregidos respecto al fondo, transformados en escala Log-2 y normalizado en cuantiles para poder obtener un valor individual para cada sonda. Se realizó el análisis estadístico con el software Partek Genomics Suite y Partek Pathways (Partek incorporated, St. Louis, USA) considerando a aquellos genes que pasaban este filtro como DEGs (Differentially expressed genes). Los DEGs obtenidos fueron posteriormente analizados mediante los términos de ontología génica (GO) y rutas KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes).

4 bloques de datos independientes (GSE9844[a], GSE3524[b], GSE25099[c], GSE138206) fueron descargados de la base de datos NCBI Gene Expression Omnibus

(GEO). Todos los datos descargados corresponden a datos de expresión génica de muestras de cáncer oral de células escamosas. Elegimos estos sets porque todos son estudios donde se comparan controles sanos respecto a cánceres de la cavidad oral. Obtuvimos los datos de expresión genómica usando el RMA, utilizando el software Partek Genomics suite con los mismos parámetros que usamos para analizar nuestras muestras. Con esos datos realizamos diagramas de Venn entre todos los estudios y el nuestro para observar la confluencia genética entre leucoplasia oral y cáncer.

A partir de los genes superpuestos se generaron redes basadas en las regulaciones entre las interacciones de los genes y los miRNA y la interacción proteína-proteína (PPI). La red de miRNAs fue creada mediante miRNET (<https://www.mirnet.ca/>), cuyos datos provienen de las bases de datos miRTarBase v8.0 [d], TarBase v8.0 [e] y miRecords[f] y fue establecida y visualizada usando el software Cytoscape versión 3.8.2 (<http://www.cytoscape.org/>). La herramienta de búsqueda para la recuperación de interacciones entre genes y proteínas (STITCH; <http://stitch.embl.de/>) es una base de datos biológica para encontrar predecibles y conocidas interacciones entre proteínas y esta fue utilizada para generar redes de interacción entre proteínas (PPI, protein-protein interaction).

**Fig. 4.7. Ilustración Clariom S Array (ThermoFisher Scientific).**

**(<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/902916>)**





#### **4.7. Análisis estadístico:**

##### **4.7.1. Estudio del tratamiento de la leucoplasia oral con láser de CO<sub>2</sub>:**

Los resultados se expresaron en frecuencias absolutas y frecuencias relativas. Algunas de las variables que pudieron influir en los resultados clínicos se agruparon para simplificar el análisis estadístico. Los pacientes que consumían tabaco se dividieron en  $\leq 10$  y  $> 10$  cigarrillos/día; el aspecto clínico de la leucoplasia oral como homogéneo y no homogéneo; la localización de la lesión se agrupó según el tipo de mucosa (mucosa de revestimiento, masticatoria y especializada); el tamaño de la lesión se dividió en  $\geq 2$  y  $< 2$  cm; el grado de displasia se agrupó en bajo, alto y sin displasia; el grado de dolor y la inflamación postquirúrgicos se agruparon en grado 1, grado 2-5 y grado 6-10; y la cicatrización de la herida se dividió como leve, moderada y completa.

La asociación entre las variables de la localización de la leucoplasia oral y la forma clínica se analizó mediante un análisis univariante utilizando la prueba de chi-cuadrado. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a  $p$ -valor  $< 0.05$ . Para determinar el efecto de las variables relacionadas con la lesión (forma clínica, localización, tamaño y displasia) y las variables de hábitos de los pacientes (consumo de tabaco, higiene oral, índice de masa corporal y bruxismo) sobre la recidiva, se realizaron modelos de regresión logística univariante.

La recurrencia acumulada de la lesión a los 18 meses fue analizada mediante el método de Kaplan-Meier creando una curva de supervivencia libre de enfermedad.

##### **4.7.2. Estudio de biomarcadores genéticos específicos en la leucoplasia oral:**

El software Partek Genomics Suite y Partek Pathways (Partek incorporated, St. Louis, USA) fueron usados para realizar el análisis estadístico de los datos obtenidos tras usar el RMA (Robust Multiarray Average) de los datos extraídos de nuestras muestras de saliva y exfoliado oral, aplicando un test de ANOVA con el  $p$ -valor  $< 0,05$  de corte.

Para observar la confluencia genética entre leucoplasia oral y cáncer realizamos diagramas de Venn entre los estudios de datos de expresión génica de muestras de cáncer oral de células escamosas y nuestro estudio.

## V. RESULTADOS

---

En el estudio se incluyeron 39 pacientes inicialmente con un número total de 53 leucoplasias orales. Hubo diferentes motivos por los cuales se descartaron algunos pacientes:

- a. El propio diagnóstico diferencial de la lesión es uno de ellos. Aunque en un momento inicial alguna lesión era compatible clínicamente con leucoplasia oral, la biopsia pudo confirmar histopatológicamente otra patología.
- b. Las lesiones que tras el estudio de la historia clínica se diagnosticaron como leucoplasia verrugosa proliferativa también fueron descartadas.
- c. Otro motivo a destacar es la motivación y cooperación de los pacientes en el seguimiento de su tratamiento, pues se necesitaba en algunos casos varias sesiones de tratamiento con láser de CO<sub>2</sub> y una secuencia de revisiones estipuladas llegando en todos los casos a 18 meses de seguimiento.

### **5.1 Descriptivo de las variables clínicas de los pacientes:**

La muestra final del estudio se ha constituido con un número total de 34 pacientes con **48 leucoplasias orales** tratadas con láser de CO<sub>2</sub>. Un 52,1% (n = 25) son leucoplasias en pacientes mujeres y un 47,9% (n = 23) en hombres, con edades comprendidas entre los 48 y 81 años con un promedio de 61,3 años (DT = 10). En la Tabla 5.1, se observa que el 55,8% son leucoplasias en pacientes con sobrepeso y un 20,8% de las leucoplasias se presenta en pacientes con diabetes.

*Tabla 5.1. Descriptivo de las variables clínicas.*

	n	%
<b>Índice masa corporal</b>		
Infrapeso	1	2,1
Normopeso	13	27,1
Sobrepeso	27	56,3
Obesidad	7	14,4
<b>Diabetes</b>		
No	38	79,2
Sí	10	20,8

Con respecto a los hábitos (Tabla 5.2), en el 35,4% de los casos la higiene oral se consideró mejorable presentando placa bacteriana y un 64,6% tiene buena higiene bucal siendo este concepto una descripción clínica del operador pues no se realizó ninguna técnica para monitorizarlo. En un 87,5% de los casos no se utiliza colutorio como complemento en la higiene oral diaria y un 77.1% de las leucoplasias orales no soporta el humo del tabaco, siendo un 20,8% de las restantes en pacientes fumadores de menos de 10 cigarrillos diarios. En cuanto al alcohol, ninguno de los pacientes mostró un consumo diario elevado. El 75% de las lesiones se presenta en pacientes no bruxistas. Ninguno de los pacientes presentó infecciones asociadas en la cavidad oral. En cuanto a las prótesis, un 10.41% era portador de prótesis parcial removible, un 25% de prótesis fija y un 31.25% llevaba al menos una corona sobre implante.

**Tabla 5.2. Descriptivo de las variables de hábitos orales.**

	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Higiene oral</b>		
Buena	31	64,6
Mejorable	17	35,4
<b>Colutorio</b>		
No	42	87,5
Sí	6	12,5
<b>Fumador</b>		
Exfumador	8	16,7
No	29	60,4
Sí (<10)	10	20,8
Sí (>10)	1	2,1
<b>Bruxismo</b>		
No	36	75
Sí	12	25

## **5.2 Descriptivo y comparativo de las variables morfológicas de las leucoplasias orales:**

En la Tabla 5.3 se muestra el descriptivo de las variables relacionadas con la lesión. La forma clínica de leucoplasia no homogénea es la que se presenta en un porcentaje mayor, en el 62,5%, y la leucoplasia homogénea en el 37.5%. La localización más frecuente es en mucosa masticatoria, en un 68,8% de los casos, seguida de la mucosa de revestimiento

en el 27.1%, y de la mucosa especializada en el 4.2%. En el 54,2% la lesión tiene un tamaño inferior a 2 cm y el 77,1% de las leucoplasias orales estudiadas no presenta displasia.

**Tabla 5.3. Descriptivo de las variables relacionadas con la lesión.**

	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Forma clínica</b>		
Leucoplasia homogénea	18	37,5
Leucoplasia no homogénea	30	62,5
<b>Localización</b>		
Mucosa de revestimiento	13	27,1
Mucosa masticatoria	33	68,8
Mucosa especializada	2	4,2
<b>Tamaño</b>		
<2 cm	26	54,2
>2 cm	22	45,8
<b>Displasia</b>		
No	37	77,1
Bajo grado	10	20,8
Alto grado	1	2,1

Un dato muy relevante se observa en la Tabla 5.4 y es que la localización de la lesión no se asocia de forma estadísticamente significativa con la forma clínica (p-valor = 0,107).

**Tabla 5.4. Descriptivo y comparativo de la localización según forma clínica.**

	<b>Forma clínica, n (%)</b>		<b>Prueba Chi-cuadrado</b>	
	<b>Homogénea</b>	<b>No homogénea</b>	<b><math>\chi^2(2)</math></b>	<b>p-valor</b>
<b>Localización</b>			4,49	0,107
Mucosa de revestimiento	6 (33,3)	7 (23,3)		
Mucosa masticatoria	10 (55,6)	23 (76,7)		
Mucosa especializada	2 (11,1)			

### **5.3 Análisis de los resultados del tratamiento con láser de CO<sub>2</sub> de la leucoplasia oral:**

En el análisis de los resultados finales a los **18 meses** del inicio del tratamiento (Fig. 5.1), se observó un **43,75 %** de éxito en el tratamiento de la leucoplasia oral con láser de CO<sub>2</sub>, es decir, no se observaba patología en la zona tratada en la revisión final del tratamiento. En un 56,25% la leucoplasia oral sí recidivó de alguna manera, aunque en muchas de esas recidivas se observó una mejora en el aspecto clínico, ya sea una reducción de tamaño o un cambio en la forma clínica pasando de ser leucoplasias no homogéneas a leucoplasias homogéneas. Por esta razón las recidivas se clasificaron tres grupos diferentes según su evolución. En un 22,91% del total de las leucoplasias orales tratadas se observó una recidiva leve, en un 31,25% se observó una recidiva completa, y un 2,08% de las leucoplasias tratadas derivó en un carcinoma oral de células escamosas.(Fig. 5.2 y Fig. 5.4).

***Fig. 5.1. Diferentes leucoplasias orales tratadas con laser de CO<sub>2</sub>.***

***Fig. A y B. Leucoplasia oral sin tratar y tras el tratamiento con láser de CO<sub>2</sub>.***



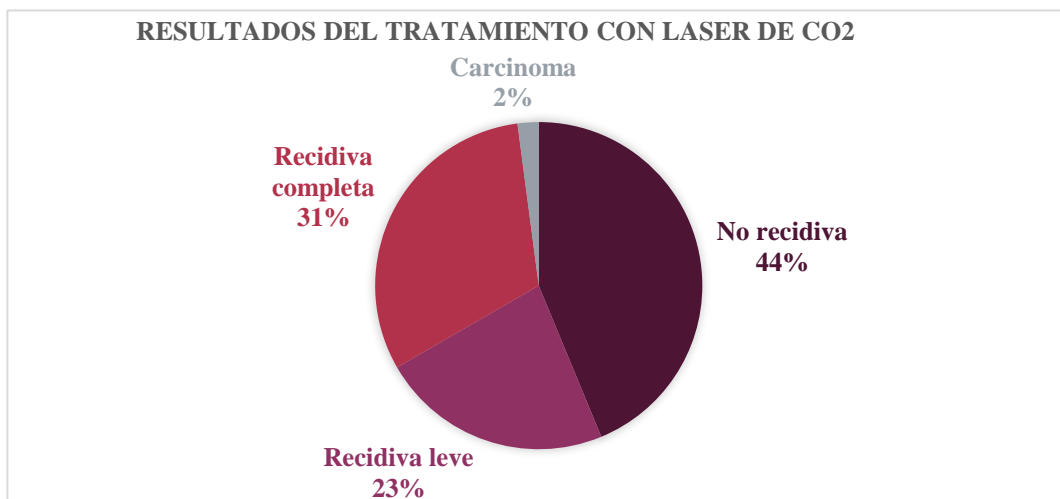
***Fig. C y D. Leucoplasia oral vaporizada con láser de CO<sub>2</sub> y revisión pasados tres meses.***



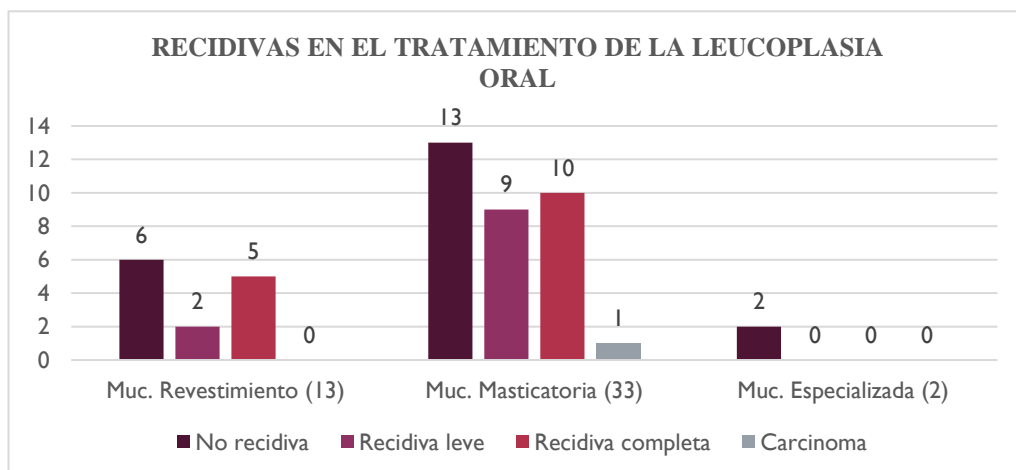
Al iniciar el estudio, las lesiones las dividimos en tres grupos según su localización y se le asignó una potencia de láser de CO<sub>2</sub> específica, como se explica en la metodología. Los resultados de las recidivas tras los 18 meses de seguimiento de estos tres grupos fueron los siguientes (también representados en la Fig. 5.3):

- Grupo 1, mucosa de revestimiento: 6 no recidiva, 2 recidiva leve, 5 recidiva completa
- Grupo 2, mucosa masticatoria: 13 no recidiva, 9 recidiva leve, 10 recidiva completa, 1 carcinoma.
- Grupo 3, mucosa especializada: 2 no recidiva.

**Fig. 5.2. Resultados a los 18 meses del inicio del tratamiento de leucoplasia oral con láser de CO<sub>2</sub>.**

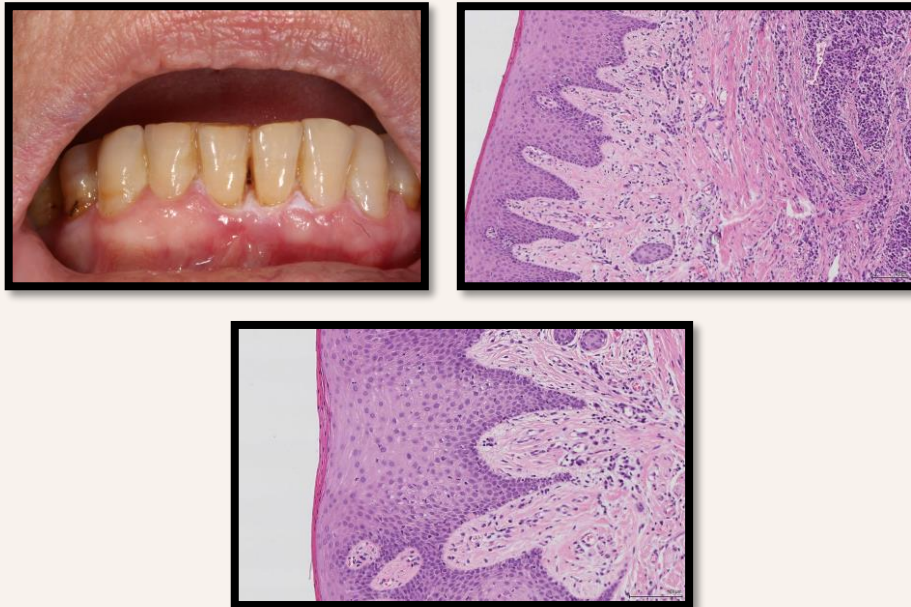


**Fig. 5.3. Recidivas registradas a los 18 meses del inicio del tratamiento de leucoplasia oral divididas en los 3 grupos de pacientes (por localización de la lesión).**

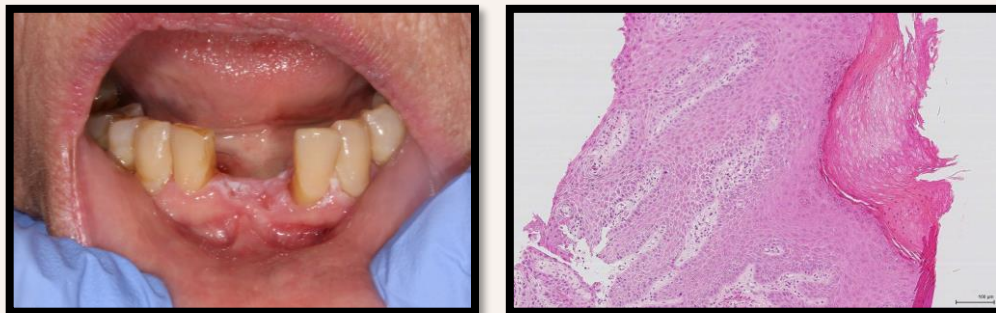


**Fig. 5.4. Transformación a carcinoma oral de una leucoplasia oral en encía.**

**Fig A, B y C. Hiperplasia pseudoepiteliomatosa.**



**Fig D y E. Hiperplasia epitelial.**



**Fig F. Hiperplasia epitelial papilomatosa con atipia leve reactiva.**



**Fig. G. Hiperplasia con displasia severa: CARCINOMA IN SITU.**





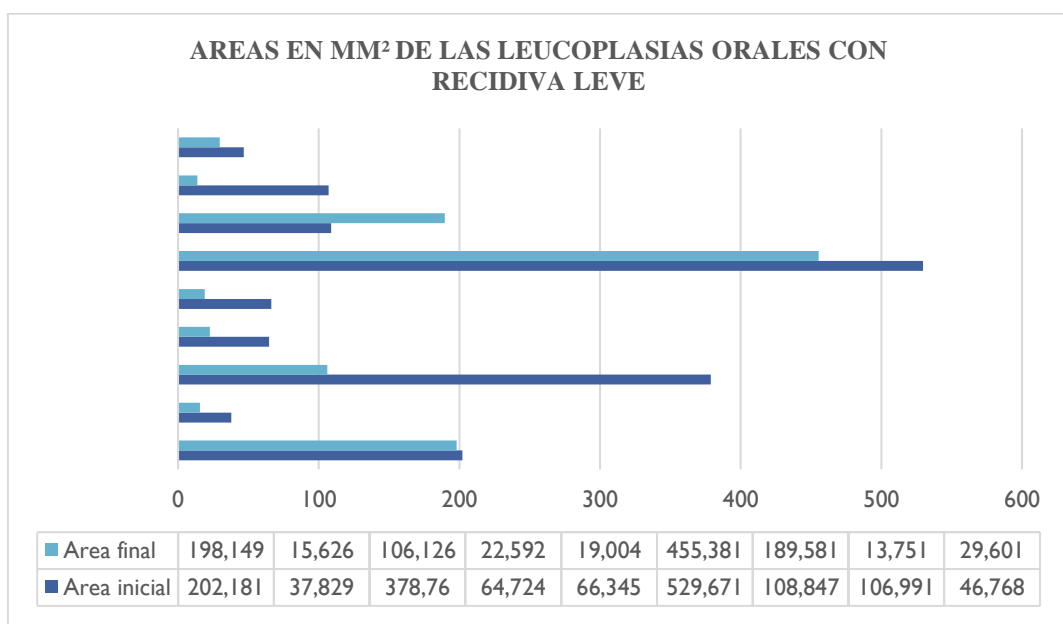
#### **5.4 Análisis de los resultados con el programa ImageJ:**

En el grupo de leucoplasias orales clasificadas como recidiva leve (11 casos) se ha analizado el área de la lesión con el programa informático ImageJ para comparar los registros fotográficos de las lesiones antes y después del tratamiento. Se han obtenido los siguientes resultados:

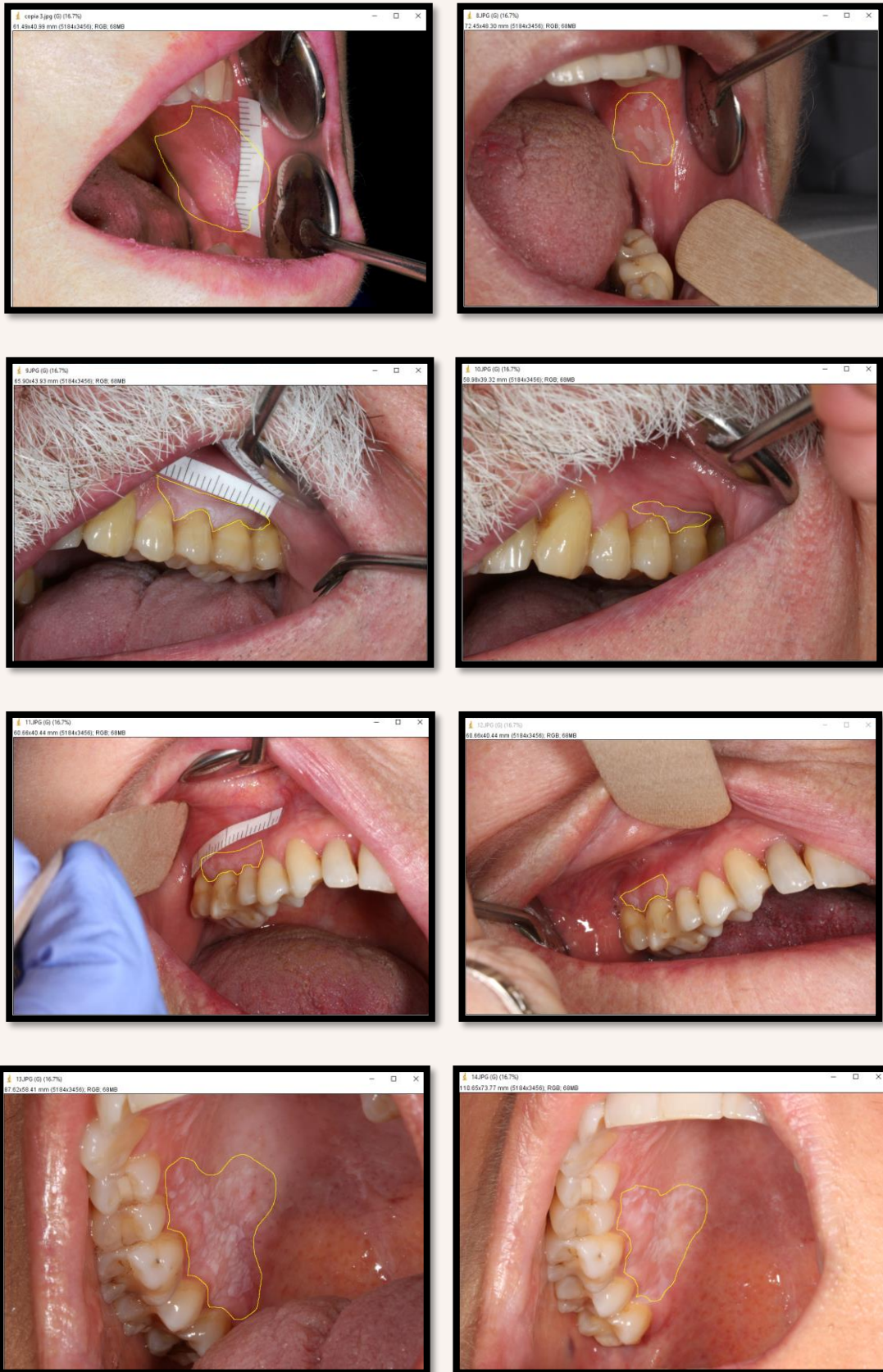
- Una de ellas no se pudo realizar este análisis por la ausencia de la foto final del tratamiento y en otra por la inclinación de la foto en sí que no muestra toda la leucoplasia.
- En 8 de 9 casos analizados de las leucoplasias orales que han derivado a una recidiva leve, se observa una reducción del área de la lesión.

De esta manera podemos verificar que probablemente la recidiva leve se produce en la mayoría de los casos reduciendo el tamaño del área de la lesión no sólo al ojo del operador, sino con ayuda de una medición real del área en mm<sup>2</sup> (Fig 5.5). En los casos que no se ha disminuido el área de la lesión o el área es muy parecida, hay una mejora en la forma clínica, ya sea disminuyendo el grado de verrugosidad y/o de intensidad de zonas blancas dentro de la propia lesión (Fig. 5.6).

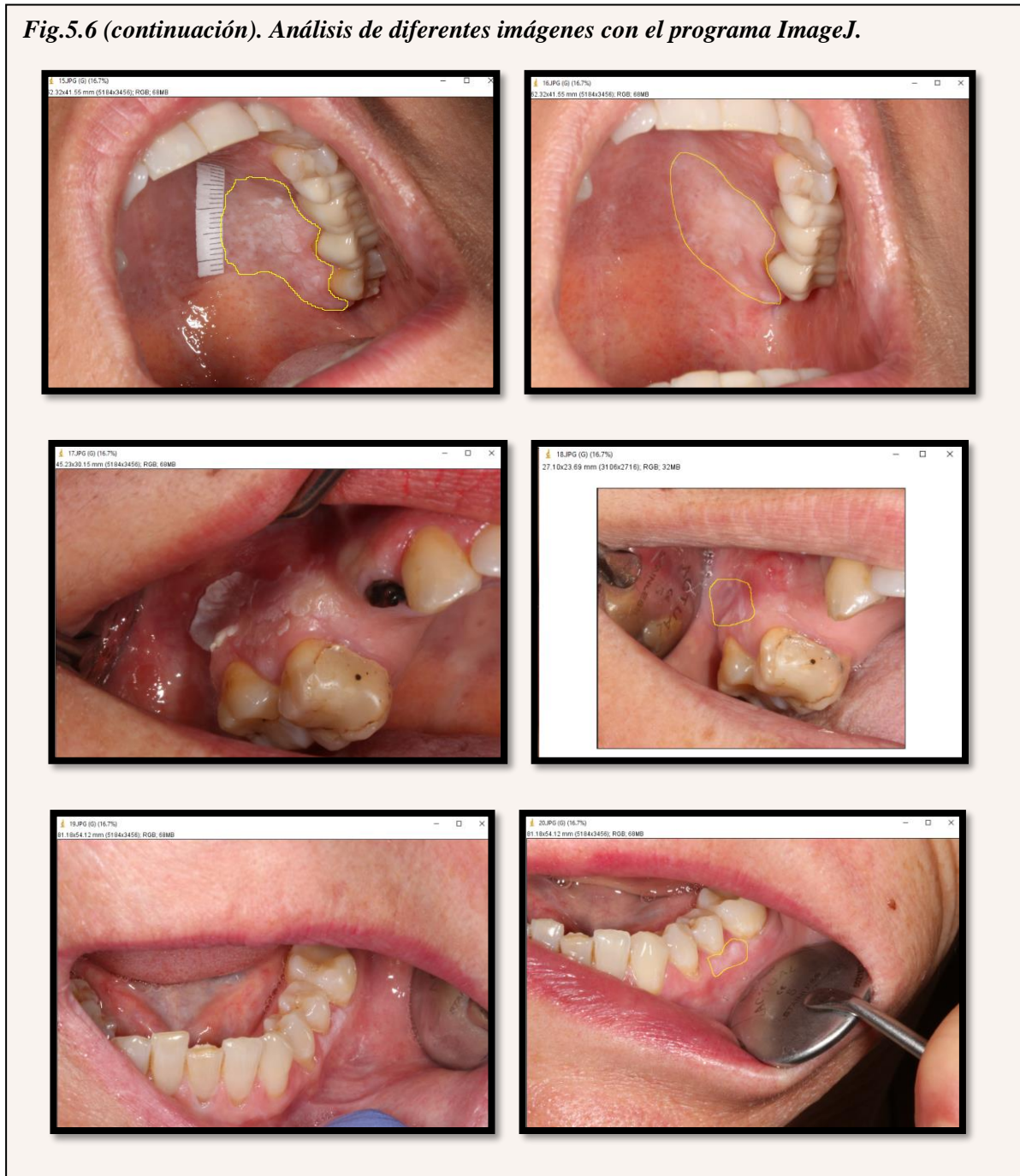
**Fig. 5.5. Comparativa del área en mm<sup>2</sup> de las fotos de inicio-final de las leucoplasias orales que han dado como resultado una recidiva leve tras el tratamiento con láser de CO<sub>2</sub>.**



**Fig.5.6. Análisis de diferentes imágenes con el programa ImageJ.**



**Fig.5.6 (continuación). Análisis de diferentes imágenes con el programa ImageJ.**



### **5.5 Resultados del análisis estadístico en la recidiva de las lesiones:**

Para determinar el efecto de las variables relacionadas con la lesión y las variables de hábitos de los pacientes sobre la recidiva, se realizaron modelos de regresión logística univariante cuyos resultados se muestran a continuación.

Con respecto a las variables relacionadas con la lesión (Tabla 5.5 y Fig. 5.7), los resultados evidenciaron que ninguna de las variables tiene un efecto estadísticamente significativo en el curso de la recidiva. Con respecto a las variables relacionadas con los

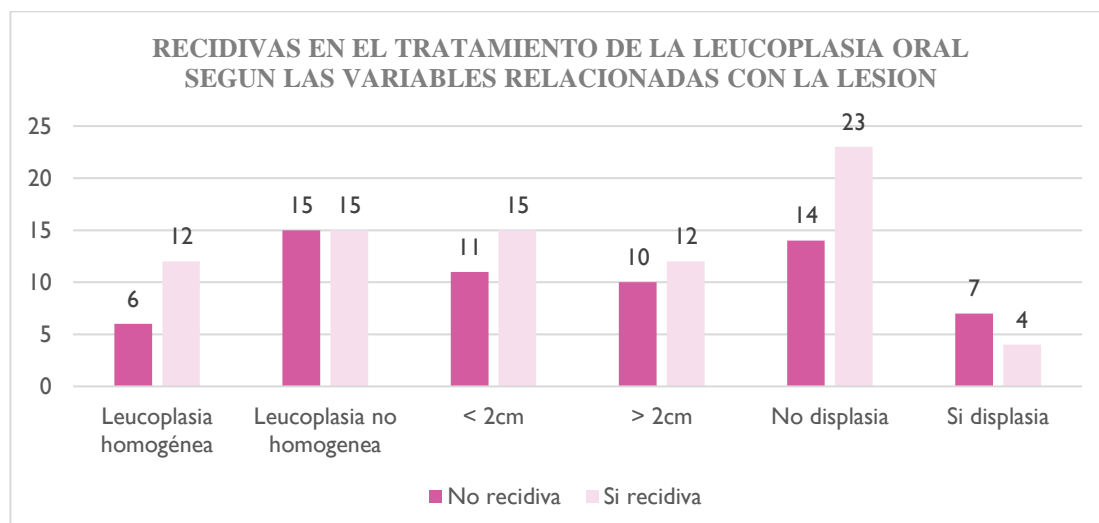
hábitos de los pacientes (Tabla 5.6), los resultados tampoco evidenciaron ningún efecto estadísticamente significativo en el curso de la recidiva.

**Tabla 5.5. Efecto de las variables relacionadas con la lesión en la recidiva.**

	Recidiva, n (% de fila)		Regresión Logística Univariante		
	No	Sí	OR	IC 95%	p-valor
<b>Forma clínica</b>					
Leucoplasia Homogénea	6 (33,3)	12 (66,7)	1		
Leucoplasia no homogénea	15 (50)	15 (50)	2	0,59 - 6,73	0,263
<b>Localización</b>					
Mucosa de revestimiento	6 (46,2)	7 (53,8)	1		
Mucosa masticatoria	13 (39,4)	20 (60,6)	1,319	0,36 - 4,81	0,675
<b>Tamaño</b>					
<2 cm	11 (42,3)	15 (57,7)	1		
>2 cm	10 (45,5)	12 (54,5)	0,88	0,28 - 2,76	0,827
<b>Displasia</b>					
No	14 (37,8)	23 (62,2)	1		
Sí	7 (63,6)	4 (36,4)	0,348	0,09 - 1,41	0,138

OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza

**Fig. 5.7. Recidivas registradas a los 18 meses del inicio del tratamiento de leucoplasia oral según las variables relacionadas con la lesión: forma clínica, tamaño y displasia.**



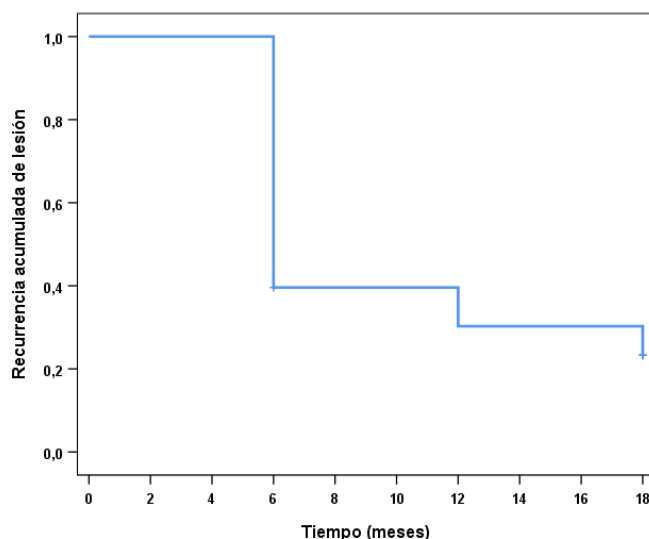
**Tabla 5.6. Efecto de las variables relacionadas con los hábitos de los pacientes en la recidiva.**

	Recidiva, n (% de fila)		Regresión logística Univariante		
	No	Sí	OR	IC 95%	p-valor
<b>Fumador</b>					
No	10 (34,5)	19 (65,5)			
Sí	9 (81,8)	2 (18,2)	0,163	0,02 - 1,40	0,098
Exfumador	2 (25)	6 (75)	1,579	0,27 - 9,31	0,614
<b>Higiene oral</b>					
Buena	14 (45,2)	17 (54,8)			
Mejorable	7 (41,2)	10 (58,8)	1,176	0,36 - 3,90	0,790
<b>Diabetes</b>					
No	19 (50)	19 (50)			
Sí	2 (20)	8 (80)	4	0,75 - 21,35	0,105
<b>Índice de masa corporal</b>					
Normopeso	4 (28,6)	10 (71,4)			
Sobrepeso	17 (50)	17 (50)	0,400	0,11 - 1,53	0,180
<b>Bruxismo</b>					
No	17 (47,2)	19 (52,8)			
Sí	4 (33,3)	8 (66,7)	1,789	0,46 - 7,02	0,404

OR: odds ratio. IC: intervalo de confianza

Como se observa en la curva de supervivencia realizada mediante el método de Kaplan-Meier (Fig. 5.8) , la supervivencia libre de enfermedad de los pacientes a 18 meses fue del  $23,3 \pm 0,06\%$  con una estimación de meses hasta la reaparición de la lesión de  $10,2 \pm 0,8$  meses (IC95% = 8,63-11,8), en promedio.

**Fig. 5.8. Supervivencia libre de enfermedad a 18 meses.**



### **5.6 Análisis de la sintomatología postquirúrgica, la cicatrización de las heridas y las complicaciones durante el tratamiento y postcirugía:**

En la primera visita de revisión tras la vaporización con el láser, se hizo una encuesta a los pacientes sobre el grado de dolor e inflamación en una escala del 1 al 10 y se registraron los resultados de la Tabla 5.7. En un 39.6% de las leucoplasias tratadas el grado de dolor máximo soportado por los pacientes fue 1 y en un 60,4% la inflamación percibida también fue de grado 1. En esa misma visita, también se analizó la cicatrización (Tabla 5.7) dando como resultados que en un 47,9% de los casos la cicatrización ya era completa en un intervalo de 1 a 4 semanas.

Un 31,2% de las leucoplasias tratadas presentó alguna complicación durante la vaporización o postcirugía, siendo en la mayoría de los casos muy leves. Durante el tratamiento hubo dos complicaciones a mencionar:

- En 4 casos se rozó el diente adyacente a la lesión provocándole rugosidad (en un caso se provocó una pulpitis irreversible tratada con endodoncia).
- En un caso el acceso con el láser fue imposible en toda la superficie de la leucoplasia oral por la inclinación de un diente adyacente.

Como complicaciones postquirúrgicas se presentaron 4 diferentes: (Fig. 5.9)

- Sangrado leve en 2 casos.
- Úlcera grande en 6 casos (2 de ellos con sobreinfección tratadas con terramicina local y antibióticos orales). Estos casos fueron los considerados como complicaciones algo más complejas teniendo un seguimiento más exhaustivo con revisiones semanales hasta la curación completa de la úlcera. Estos casos corresponden al 12.5% del total.
- Leve inflamación ganglionar a nivel del cuello en caso.
- Inflamación leve de la mejilla con hematoma.

**Tabla 5.7. Sintomatología postquirúrgica y cicatrización de la herida a las 1-4 semanas de la cirugía.**

	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Dolor</b>		
Grado 1	19	39.6
Grado 2-5	24	50
Grado 6-10	5	10.4
<b>Inflamación</b>		
Grado 1	29	60.4

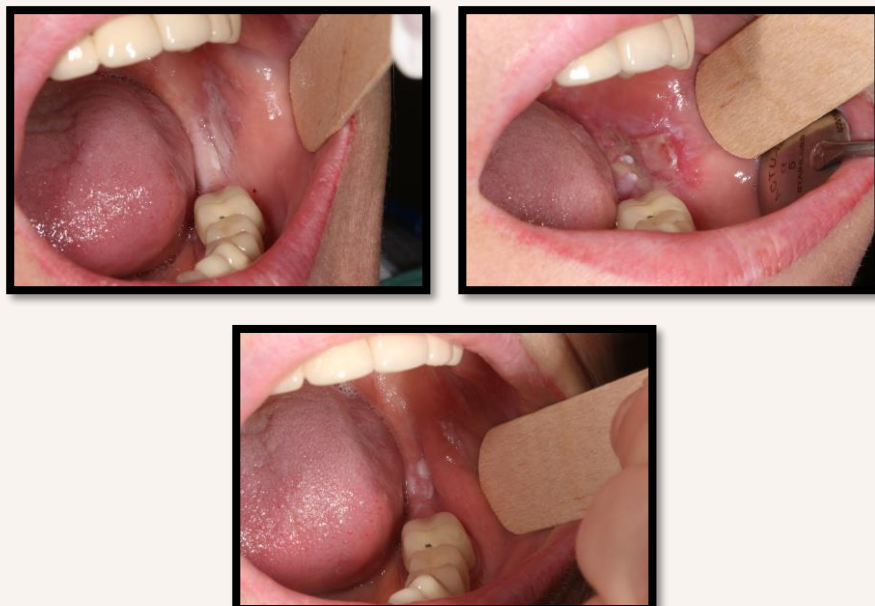
Grado 2-5	13	27.8
Grado 6-10	6	12.5
<b>Cicatrización</b>		
Leve	9	18.7
Moderada	16	33.3
Completa	23	47.9

**Fig. 5.9. Complicaciones postquirúrgicas del tratamiento con láser de CO<sub>2</sub>.**

**Fig. A, B, C y D. Leucoplasia inicial, úlcera en la lengua tras la vaporización y su recuperación a la semana y al final del tratamiento.**



**Fig. E, F y G. Leucoplasia inicial, úlcera en mucosa yugal tras la vaporización y mucosa al final del tratamiento.**



### **5.7. Resultados del estudio de los biomarcadores genéticos específicos en la leucoplasia oral:**

En cuanto al estudio de los biomarcadores genéticos, se tomaron las muestras de saliva y de exfoliado de la mucosa oral con lesión y de mucosa oral sana de 6 mujeres con un edad media de 63 años. 3 de ellas eran leucoplasias orales diagnosticadas y las otras 3 fueron controles. De las leucoplasias orales, 2 se encontraban en la encía y una de ellas en la lengua. En saliva encontramos 648 genes que se expresaban de manera distinta respecto al control sano (DEGs-S) ( $p > 0.05$ ) de los cuales 432 se hallaban reprimidos y 216 sobreexpresados. En las células exfoliadas orales (*OEC*) encontramos 943 genes que se expresaban de manera distinta (DEGs-E) ( $p < 0.05$ ) de los cuales habían 483 reprimidos y 460 sobreexpresados. 24 DEGs con expresión coincidente fueron compartidos entre las muestras de saliva y células exfoliadas orales: ARID1B, ATP6AP1L, FAM181B, INPP4B, KIF15, MRPL13, NKAIN3, OLFM3, OR2A5, OR6T1, PLK2, SAG, SORBS1, TM4SF18, TUBB2A, UGT3A1, GTPBP1, HHAT, LIPI, OR6S1, ZNF639, ZNF669, ZNF70, ZNF99.

Para descifrar que funciones biológicas desempeñan los DEGs y en que procesos participan en la leucoplasia oral, se realizaron análisis de ontología génica. En el caso de las células exfoliadas orales obtuvimos 343 resultados de ontología génica y 14 rutas KEGG con  $p < 0.05$ . En el caso de la saliva, obtuvimos 230 resultados de ontología génica y 4 rutas KEGG. En la tabla 5.8 podemos ver los 10 procesos más afectados de ontología génica para cada tipo de muestra.

**Tabla 5.8. Diez procesos más afectados de ontología genética en saliva y en las células exfoliadas orales.**

<b>A - Saliva</b>				
<b>Función</b>	<b>Tipo</b>	<b>Puntuación de enriquecimiento</b>	<b>P-valor de enriquecimiento</b>	<b>Nº gen</b>
Actividad de la glicina N-aciltransferasa	Función molecular	8,977	<0,001	3
Regulación negativa del comportamiento	Proceso biológico	8,830	<0,001	5
Regulación negativa del comportamiento alimentario	Proceso biológico	8,596	<0,001	4



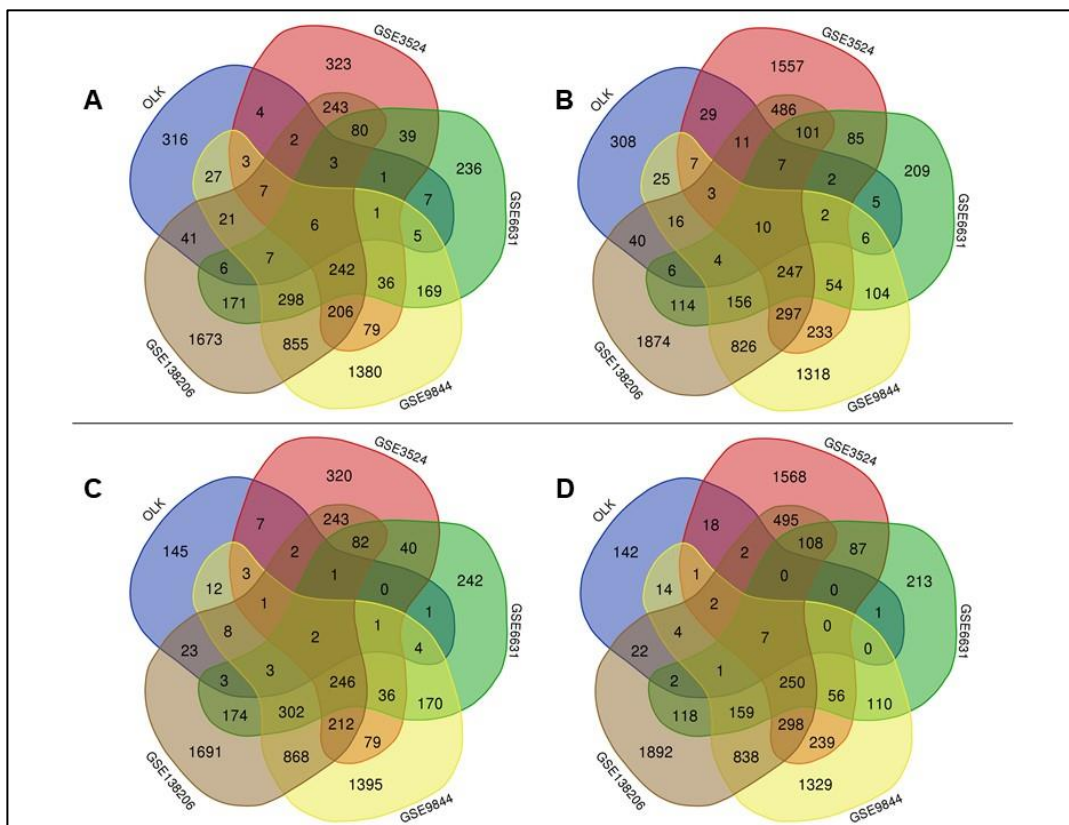
Regulación negativa de la transducción de señales de la proteína Rho	Proceso biológico	8,252	<0,001	5
Detoxificación de compuestos nitrogenados	Proceso biológico	8,085	<0,001	3
Regulación de la proliferación de células precursoras neurales	Proceso biológico	7,095	<0,001	9
Regulación de la unión de proteínas	Proceso biológico	6,635	0,0013	16
Regulación positiva de la vía de señalización del receptor de células B	Proceso biológico	6,434	0,0016	3
Regulación de la diferenciación de las células grasas	Proceso biológico	6,373	0,0017	11
Mantenimiento de los telómeros mediante su alargamiento	Proceso biológico	6,354	0,0017	5

#### B – Células exfoliadas orales

<b>Función</b>	<b>Tipo</b>	<b>Puntuación de enriquecimiento</b>	<b>P-valor de enriquecimiento</b>	<b>Nº gen</b>
Pigmentación	Proceso biológico	8,404	<0,001	8
Fijación de amiloide-beta	Función molecular	8,054	<0,001	12
Proceso biosintético de la L-prolina	Proceso biológico	7,809	<0,001	3
Proceso biosintético de la prolina	Proceso biológico	7,809	<0,001	3
Actividad del receptor de carga	Función molecular	7,262	<0,001	12
Desarrollo del tejido biomineral	Proceso biológico	7,157	<0,001	12
Comportamiento adulto	Proceso biológico	6,876	0,001	16
Regulación extracelular de la transducción de señales	Proceso biológico	6,829	0,001	7
Regulación negativa extracelular de la transducción de señales	Proceso biológico	6,829	0,001	7
Proceso metabólico de los glucósidos	Proceso biológico	6,465	0,002	5

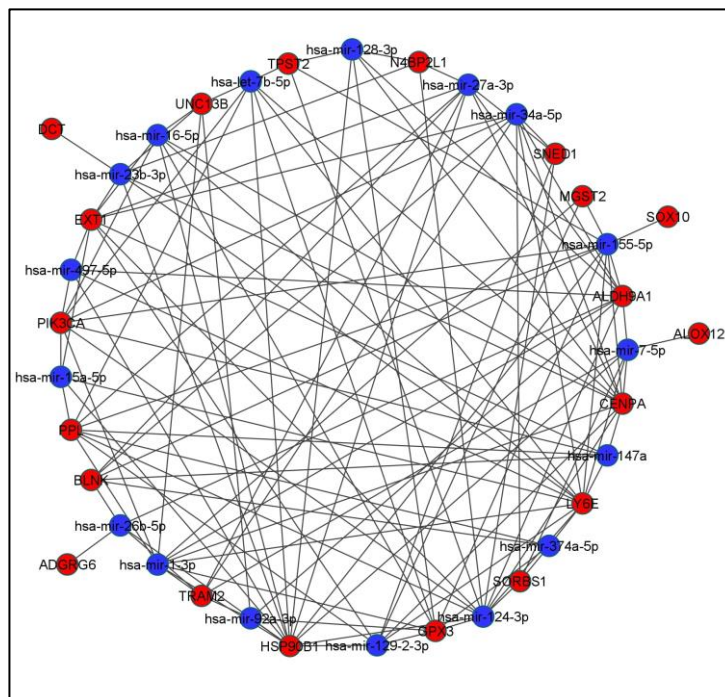
Para la búsqueda de potenciales genes marcadores que puedan determinar que leucoplasias orales tienen riesgo de transformarse en cáncer oral, decidimos buscar entre los genes que se encontraban alterados en la leucoplasia oral aquellos que también mostraban alteraciones en la expresión en muestras de carcinoma oral de células escamosas. Cruzamos los resultados de cuatro estudios publicados en las bases GEO con datos de cáncer oral y los comparamos con nuestros DEGs obtenidos con muestras de leucoplasia. En las células exfoliadas orales hallamos 16 genes superpuestos: CENPA, EXT1, HSP90B1, LY6E, TPST2, TRAM2 (sobrexpresados) y ALOX12, BLNK, DCT, GPX3, MGST2, PPL, PRELP, PTGER3, SNED1, SORBS1 (reprimidos) (Fig. 5.10 A y B). Por otro lado, en saliva obtuvimos 9: MYDGF, PIK3CA (sobrexpresados) y ADGRG6, ALDH9A1, C21orf2, N4BP2L1, SORBS1, SOX10, UNC13B (reprimidos) (Fig. 5.10 C y D). Estos genes se hallan afectados de manera idéntica tanto en cáncer oral como en leucoplasia.

**Fig. 5.10.** Diagrama de Venn para los genes superpuestos entre nuestros genes que se encuentran alterados en la leucoplasia oral y los genes expresados diferentes obtenidos de muestras de carcinoma oral de células escamosas de GSE9844, GSE3524, GSE25099 y GSE138206. (A) genes sobreexpresados y (B) genes reprimidos en las células exfoliadas orales. (C) genes sobreexpresados y (D) genes reprimidos en la saliva.



Las redes de regulación de interacción entre proteínas y miRNA nos dan una visión global sobre qué genes y proteínas pueden verse afectados por la modificación de la expresión de nuestros DEGs. Para ello, usamos los DEGs coincidentes entre nuestras muestras de leucoplasias orales y los de carcinoma oral de células escamosas pertenecientes a las bases GEO Omnibus. Un total de 596 de pares de miRNA y sus correspondientes genes reguladores fueron identificados (Anexo 8). En la Fig. 5.11 podemos observar las más relevantes interacciones entre los miRNA y los genes que se expresaban de manera diferente en nuestras muestras y en las de cáncer oral de células escamosas.

**Fig. 5.11. Red reguladora entre miRNA-gen y DEGs superpuestos. Los círculos rojos representan nodos de genes; los círculos azules representan nodos de miARN; las líneas representan pares reguladores miARN-genes. Los miARN con grado inferior a 4 fueron eliminados de la imagen.**

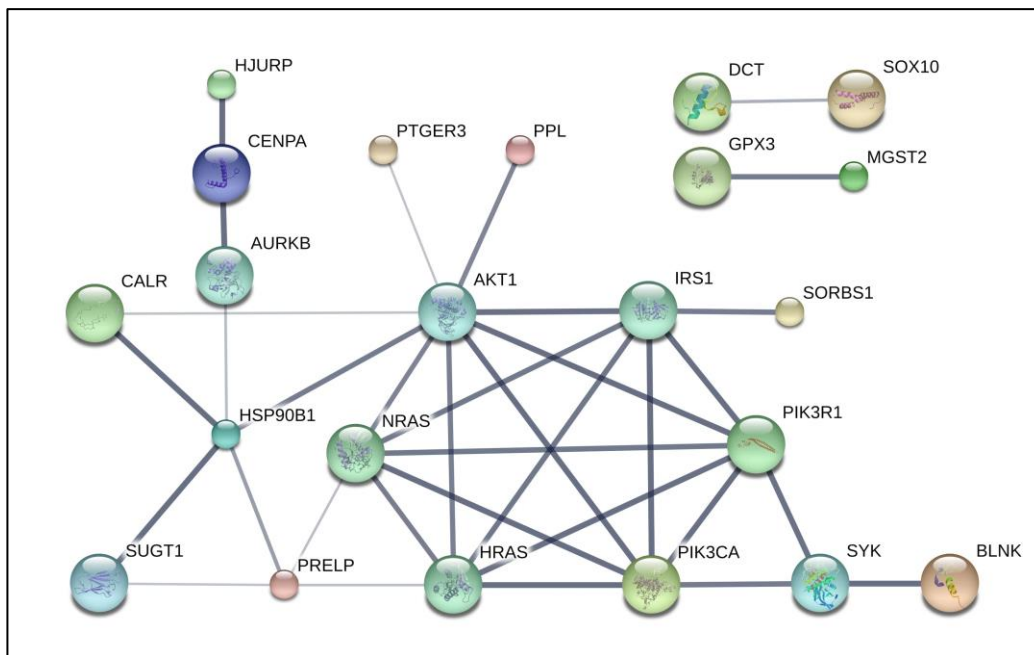


Por otro lado, la Tabla 5.9 informa de los 20 miRNAs con mayor asociación con estos genes, mientras que la Fig. 5.12 muestra las interacciones entre proteínas y los genes solapados.

Tabla 5.9. Los 20 principales nodos de la red reguladora de miRNA-genes.

NODO DE GENES	GRADO
hsa-mir-124-3p	12
hsa-mir-1-3p	10
hsa-mir-155-5p	11
hsa-mir-27a-3p	9
hsa-mir-34a-5p	9
hsa-let-7b-5p	8
hsa-mir-129-2-3p	8
hsa-mir-16-5p	7
hsa-mir-7-5p	7
hsa-mir-23b-3p	7
hsa-mir-128-3p	6
hsa-mir-147a	6
hsa-mir-15a-5p	5
hsa-mir-26b-5p	5
hsa-mir-92a-3p	5
hsa-mir-497-5p	5
hsa-mir-374a-5p	5
hsa-mir-30a-5p	4
hsa-mir-98-5p	4
hsa-mir-101-3p	4

Fig. 5.12. Red de interacción proteína-proteína de los genes expresados diferencialmente superpuestos entre leucoplasia oral y carcinoma oral de células escamosas y los socios funcionales. Las asociaciones más fuertes están representadas por líneas más gruesas. Los nodos desconectados se eliminaron de la red.



## VI. DISCUSIÓN

---

Este estudio se basa en una revisión de la leucoplasia oral y en el tratamiento con láser de CO<sub>2</sub> de un total de 48 lesiones, con el fin de analizar las variables clínicas de los pacientes y las variables morfológicas de las lesiones que puedan afectar en la recuperación tras la cirugía, la tasa de recidiva y la tasa de transformación maligna. Tras el seguimiento de las leucoplasias orales tratadas a los 18 meses, se ha observado una ausencia de las lesiones en el 44%, una recidiva leve en el 23%, una recidiva completa en el 31% y una tasa de transformación maligna del 2%.

La evolución en el estudio, clasificación y terminología da a conocer los grandes avances en las últimas décadas sobre el conocimiento de las lesiones de la mucosa oral. Desde los primeros datos de 1978, con la primera definición de leucoplasia oral, hasta la actualización de la reunión del Centro Colaborador de la OMS en marzo de 2020, se han descrito profundos avances en el campo de las lesiones orales llegando a la última clasificación propuesta con los trastornos orales potencialmente malignos (OPMDs) y la definición actual de leucoplasia oral que ahora se recoge ampliamente en la literatura revisada: *“Placa blanca de riesgo de transformación maligna cuestionable habiendo excluido (otra) enfermedad o trastorno conocido que no conlleven un mayor riesgo de cáncer”*<sup>2</sup>.

Se calcula que cada año unos 300.000 pacientes padecen cáncer oral en todo el mundo, siendo el sexto cáncer más frecuente en el mundo<sup>68</sup>, y la incidencia es mayor en los países del sur de Asia<sup>69</sup>. A pesar del fácil acceso a la cavidad oral, se produce una mortalidad elevada asociada al cáncer oral, ya que a menudo se diagnostica de forma tardía. La biopsia con posterior examen microscópico del tejido lesional sigue siendo el gold standard para el diagnóstico del cáncer oral y de los OPMDs<sup>70</sup>, aunque en la literatura se describen varios métodos adicionales, como la tinción con azul de toluidina, azul de metileno, yodo de Lugol y quimioluminiscencia<sup>69</sup>. Son necesarios conocimientos y una técnica específica para identificar el lugar adecuado para la biopsia en las lesiones orales. La tasa global de transformación maligna estudiada recientemente en el metaanálisis de Iocca y cols.<sup>36</sup> en los OPMDs es del 7,9%, asociando significativamente a un riesgo mucho mayor a los OPMDs con displasia moderada/grave en comparación con presencia de displasia leve, como ya se ha tratado en el apartado 1.

La leucoplasia oral es una lesión clínica e histológicamente compleja. Sus manifestaciones clínicas pueden tomar diferentes formas, distribución y localización, encontrando leucoplasias orales tan dispares como una simple placa lisa blanquecina o lesiones con superficies irregulares, exofíticas, verrugosas y/o ulceradas, que pueden encontrarse aisladas o de manera diseminada. Se puede clasificar como leucoplasia oral desde una hiperplasia hiperqueratósica sin displasia epitelial, hasta una displasia de alto grado con fenómenos de atrofia. Deriva de uno o varios clones de células dentro de un área mucosa oral más grande que comprende otros clones de células a veces estigmatizadas con cáncer invisibles para el examen clínico e histológico de rutina<sup>56</sup>. Se trata de una lesión potencialmente maligna con gran capacidad de recidiva en la que se han empleado diferentes métodos para su tratamiento, tanto médicos como quirúrgico. Los estudios clínicos realizados en la línea médica para su tratamiento dan como resultado una alta tasa de recidiva con una gravedad variable de los efectos secundarios<sup>71</sup>.

Sus variadas características clínicas e histopatológicas pueden explicar la falta de éxito en el tratamiento quirúrgico mediante escisión quirúrgica y un posible estímulo de promoción del cáncer mediante esta cirugía. Aun así, la retirada quirúrgica de las lesiones es muy recomendable, siendo su estudio histopatológico imprescindible, y debe realizarse para garantizar el diagnóstico correcto de las lesiones, pues encontramos carcinomas inesperados en el 7% de leucoplasias orales no sospechosas<sup>56</sup>. La tasa anual de transformación maligna de las leucoplasias orales se estima entre 0.13-3.5% según los artículos revisados<sup>11, 15, 16, 10, 36</sup>, por lo que todas las pautas de seguimiento, diagnóstico, tratamiento y evaluación postratamiento van dirigidas hacia el diagnóstico precoz y/o la prevención de la transformación hacia cáncer oral.

El uso del láser de CO<sub>2</sub> está muy extendido. Se ha recomendado para tratar lesiones orales benignas tales como como fibromas, papilomas, hemangiomas, hiperplasias gingivales de diversas causas (idiopáticas o causadas por los efectos secundarios de los medicamentos), úlceras aftosas o extirpación de frenillos linguales, así como lesiones premalignas como el liquen plano y la leucoplasia oral<sup>58, 71</sup>.

España y cols.<sup>72</sup> en su artículo sobre las aplicaciones del láser en odontología, presentan un resumen de las indicaciones y contraindicaciones del uso de diferentes láseres en distintos tratamientos. Centrándonos en el uso del láser CO<sub>2</sub> describen:

- Uso muy indicado: Frenillos labiales y lingual, papilomas de origen vírico y no

vírico, fibromas, adenomas, lipomas, diapneusias, mucocelos, hemangiomas, angiofibromas, hiperplasias fibrosas, épulis, granuloma periférico de células gigantes, granuloma piógeno, eliminación de tejido de granulación, vestibuloplastia por segunda intención, eliminación de bridas y frenillos, segundas fases en implantología y lesiones premalignas siempre con informe anatomopatológico previo que no revele más que una displasia leve o moderada.

- Uso bastante indicado: pigmentaciones, alargamiento de coronas, angiomas, cirugía periapical (legrado apical) y mucositis periimplantaria.
- Uso indicado: grabado del esmalte, hiperestesia dentinaria, gingivectomías, angiomas (con cirugía convencional), descontaminación de bolsas en periodoncia y cirugía periapical.
- Se puede utilizar: sellado de fosas y fisuras (uso muy limitado por pulpitis irreversibles, efecto bactericida), endodoncia (descontaminación del conducto radicular) y blanqueamiento dental (calentamiento de la mezcla del producto blanquedor).
- Uso contraindicado: preparaciones dentarias, todo tratamiento que necesite una cicatrización por primera intención y cualquier tratamiento que incluya tejido óseo.

El láser de CO<sub>2</sub> tiene una longitud de onda de 10.600 nm y es totalmente absorbido por el agua. Su aplicación se realiza sin contacto directo sobre el tejido a tratar. La focalización del rayo consigue un corte quirúrgico mientras que su desfocalización produce la vaporización del tejido. El láser de CO<sub>2</sub> es muy absorbido en superficie y es poco penetrante en el tejido blando bucal. Es método quirúrgico perfecto para los tratamientos realizados sobre los tejidos blandos bucales por su 80% de presencia de agua.

Las intervenciones quirúrgicas requieren un aprendizaje y un entrenamiento previos por parte de los clínicos al no existir un contacto físico entre la pieza de mano y los tejidos, por lo que no se tiene sensación táctil y se pierde la referencia de profundidad. Además la máquina de láser tiene un brazo articulado que conecta la fuente emisora hasta la pieza de mano por la que sale el haz de luz. Este brazo articulado a veces es algo engorroso en su manipulación y el profesional sanitario deberá practicar en su manejo puesto que podría desviar el haz de luz del punto donde se pretende incidir.

La luz láser se absorbe por el humor acuoso del ojo y existe un alto riesgo de producir

daños oculares. El uso de gafas de protección es obligatorio para todo el personal sanitario y para el paciente, lo que complica un poco la intervención al ser gafas oscuras. El tratamiento debe efectuarse en un local cerrado y bien ventilado<sup>57</sup>.

En cuanto al acto quirúrgico propiamente dicho, es necesario tener ciertas precauciones. Es imprescindible proteger los dientes y las corticales óseas cuando se esté trabajando cerca de ellas ya que el láser de CO<sub>2</sub> se aplica sobre los tejidos blandos y no sobre los tejidos duros. Ningún material que se utilice durante la intervención quirúrgica puede ser metálico, por lo cual si se pretende usar utensilios metálicos tales como espejos de exploración, sondas, etc., tiene que ser cubiertos con fundas o gasas, a fin de no reflejar el haz de luz. En nuestro estudio, preferimos usar instrumentos de madera (depresores linguales) para separar y proteger los tejidos.

Las principales ventajas del uso del láser de CO<sub>2</sub> son la mínima inflamación, una cicatrización por segunda intención muy rápida y un dolor postoperatorio leve. El rayo láser produce la sección y el sellado de las terminaciones nerviosas de la zona intervenida, además la delgada capa de colágeno desnaturalizado que se forma en la superficie de la herida actúa impermeabilizándola a la irritación de los fluidos orales. Se percibe menor dolor postoperatorio porque la reacción inflamatoria resultante a la acción del láser de CO<sub>2</sub> también es menor ya que se produce un sellado de los vasos sanguíneos y linfáticos con calibre inferior a los 0,5mm de diámetro y, por lo tanto, se impide la extravasación de los fluidos<sup>73, 72</sup>. Siguiendo en la misma línea de los estudios repasados, en este estudio se han registrado unos datos de grado de dolor muy positivos. Sólo en el 10.4% de las intervenciones de vaporización los pacientes sintieron más de un grado 6 de dolor en alguno de los primeros días tras la cirugía (en una escala del 1-10), es más, el 39.6% solo sintió un grado 1 de dolor. En cuanto a la inflamación, los datos recogidos son muy parecidos: en el 60.4% de los tratamientos con el láser de CO<sub>2</sub> la inflamación descrita por los pacientes fue de grado 1 (también en una escala del 1-10). Toda la sintomatología remitió en los primeros días, excepto en el 12.5% de los casos que surgió como complicación una úlcera grande postquirúrgica.

A diferencia del bisturí, el láser causa esterilización instantánea de la herida quirúrgica y, debido a su naturaleza hemática, permite la cirugía en su mayor parte sin sangre; también permite un procedimiento quirúrgico sin contacto y, por lo tanto, ningún trauma mecánico en el tejido<sup>58, 74, 75</sup>. Otra ventaja a destacar es la cicatrización por segunda intención, lo



que nos ha liberado de la necesidad de la sutura tras la cirugía, reduciendo la duración de la intervención quirúrgica y la distribución y profundidad de las cicatrices, que son mucho mayores en las intervenciones con bisturí frío, como también se describe en otros artículos publicados<sup>76,57</sup>. En el análisis de la cicatrización en la primera visita de revisión tras la vaporización (entre 1-4 semanas), en un 47,9% de los casos la cicatrización ya era completa.

Existen numerosos artículos en los que comparan diferentes técnicas de exéresis de las leucoplasias orales valorando los resultados clínicos<sup>57,58,71,72-77</sup>. En los estudios que se valoran la intensidad del dolor e inflamación tras el tratamiento los resultados son que el láser de CO<sub>2</sub> causa mínimo dolor e inflamación<sup>77</sup> en comparación con bisturí frío, lo que sugiere que podría ser un método alternativo a la cirugía convencional en el tratamiento de pacientes con leucoplasia oral. Así mismo, los resultados al comparar el tratamiento de leucoplasias orales con láser de diodo, láser de CO<sub>2</sub> y crioterapia, son que la terapia con láser (CO<sub>2</sub> y diodo) ofrece mejores resultados clínicamente significativos en cuanto a dolor, edema y cicatrización que la crioterapia<sup>71</sup>. Las limitaciones de estos artículos suelen ser que no explican las posibles complicaciones surgidas ni durante el tratamiento, como el acceso complicado con el láser a toda la superficie de las lesiones, ni postcirugía, como pueden ser las úlceras postratamiento con láser y/o las lesiones a tejidos duros. En el artículo reciente de Lui y cols. (2020)<sup>78</sup> se compara el efecto clínico entre el láser Er: YAG y el láser CO<sub>2</sub> en el tratamiento de las lesiones tumorales orales. La recurrencia y las complicaciones de los grupos de CO<sub>2</sub> y Er: YAG no presentaron diferencias, aunque el láser Er: YAG tuvo mejores efectos que el láser de CO<sub>2</sub> en la eliminación de las lesiones tumorales orales, necesitando más tiempo de operación que el láser de CO<sub>2</sub>.

El tratamiento de la leucoplasia oral es un verdadero reto por las limitaciones que llevan consigo en cuanto a la recurrencia y la transformación maligna, y se describen artículos desde diferentes ramas de la medicina por su importancia clínica: odontología, dermatología, otorrinolaringología, medicina interna, anatomía patológica y oncología. Hay dos grandes revisiones sistemáticas y metaanálisis exhaustivos dedicados a agrupar las tasas de recurrencia y transformación maligna de las lesiones de leucoplasia oral tratadas con los principales tipos de láseres quirúrgicos disponibles<sup>79,80</sup>. Las tasas globales de recurrencia y transformación maligna de las lesiones de leucoplasia oral tratadas con los diferentes tipos de láseres quirúrgicos fueron del 16,5% y del 5,2%, respectivamente. Los resultados mostraron que no hay consenso en cuanto a los factores

implicados en las mayores tasas de recurrencia y transformación maligna de la leucoplasia oral, por lo que se necesitan más estudios, y que la escisión quirúrgica con láser puede disminuir estas tasas de recurrencia, pero no tiene ningún efecto sobre la transformación maligna en comparación con los tratamientos convencionales como el bisturí frío. Comparten que el láser de CO<sub>2</sub> es el más usado e indicado para el tratamiento de la leucoplasia oral debido a su eficacia y la baja morbilidad asociada, pero que se necesitan más ensayos clínicos aleatorios para comparar el láser de CO<sub>2</sub> con otros láseres.

En cuanto a la leucoplasia verrugosa proliferativa, continua en la misma situación que los últimos años. En las revisiones sistemáticas y metaanálisis recientes de Proaño-Haro y cols.(2021)<sup>81</sup> y Lafuente Ibañez de Mendoza y cols. (2021)<sup>82</sup>, se describen unas tasas de recurrencia del 67,2% y 65,8% respectivamente, y ambas con el resultado de que no hay suficiente evidencia científica para concluir que ninguna estrategia de tratamiento sea capaz de reducir su recurrencia.

En la Tabla 6.1 se describen los artículos cronológicamente publicados sobre el tratamiento de la leucoplasia oral con diferentes láser, la recidiva de las lesiones que se ha presentado y la transformación maligna a cáncer oral.

**Tabla 6.1. Revisión sistemática y metaanálisis del tratamiento con láser de la leucoplasia oral. Tabla modificada y ampliada de los artículos de Pauli Paglioni y cols. (2020)<sup>79</sup> y Mogedas-Vegara y cols. (2016)<sup>80</sup>.**

Autor	Año	País	Tamaño muestra	Tipo de estudio	Tipo de láser	Recidiva	Tasa de transformación maligna	Tiempo de seguimiento
<b>El presente estudio</b>	2021	España	48	Estudio prospectivo de tratamiento de leucoplasia oral.	Láser CO2	Total:31% Parcial:23%	2%	18 meses
<b>Yao y cols.<sup>83</sup></b>	2021	China	44	Estudio piloto aleatorio, controlado y comparativo entre terapia fotodinámica asistida por láser y láser fraccional ablativo.	AFL-PDT AFL	(A): 17% (B): 47.6%	NA	12 meses
<b>Yang y cols.<sup>84</sup></b>	2021	Taiwán	144	Estudio prospectivo sin grupo de control de leucoplasia oral.	Láser CO2	20.83%	8.33%	54.9 meses
<b>Yang y cols.<sup>85</sup></b>	2021	Taiwán	111	Estudio retrospectivo sin grupo de control de leucoplasia oral.	Láser CO2	13.51 %	3.6%	3.7 años
<b>Romeo y cols.<sup>86</sup></b>	2020	Italia	33	Ensayo clínico controlado. Grupo A:sin extensión de márgenes. Grupo B:3mm de extensión de márgenes. Grupo C:no tratamiento.	Láser CO2	(A): 45.5% (B): 36.4%	NA	6 meses
<b>Jurczyszyn y cols.<sup>87</sup></b>	2020	Polonia	32	Estudio prospectivo le leucoplasia oral	Láser Er:YAG	34%	NA	12 meses
<b>Yao y cols.<sup>88</sup></b>	2020	China	3	Estudio prospectivo de tratamiento de leucoplasia oral.	Láser CO2 con terapia fotodinámica	33%	0%	12 meses
<b>Matulic y cols.<sup>89</sup></b>	2019	Croacia	54	Ensayo clínico aleatorio. Comparación del láser Er:YAG y Er,Cr:YSGG.	Láser Er:YAG Láser Er,Cr:YSGG	0% en ambos grupos	NA	12 meses
<b>Lauritano y cols.<sup>90</sup></b>	2019	Suiza	20	Estudio prospectivo de leucoplasia oral.	Láser diodo modo pulsado.	25% recidiva parcial	0%	1 mes
<b>Gabric y cols.<sup>91</sup></b>	2019	Croacia	27	Estudio prospectivo de leucoplasia oral. Grupo control; mismos pacientes tratados previamente con sotretionina tópica al 1% tres veces al día durante un año.	Láser Er:Yag	0%	0%	12 meses
<b>Yasmeen y cols.<sup>92</sup></b>	2019	India	30	Ensayo clínico aleatorio. Comparación del láser de CO2 y cirugía con bisturí (n = 15:grupo láser) (n = 15: grupo bisturí)	Láser CO2	Láser CO2: 0% Bisturí: 20%	Láser:0% Bisturí:0%	48 meses
<b>Saibene y cols.<sup>93</sup></b>	2019	Italia	24	Revisión retrospectiva. Lesiones orales benignas y malignas tratadas con láser de CO2.	Láser CO2	0%	0%	24 meses
<b>Arduino y cols.<sup>16</sup></b>	2018	Italia	117	Estudio prospectivo. Leucoplasia oral. Comparación entre el Grupo A (bisturí- 58 lesiones) y el Grupo B (láser Er: YAG-59 lesiones).	Láser Er:YAG	(A): 43.10% (B): 50.84%	(A): 0% (B): 0%	58 meses
<b>Cloître et al.<sup>94</sup></b>	2018	Francia	14	Estudio retrospectivo sin grupo de control. Vaporización con láser de CO2 para OPMD.	Láser CO2	38.8%	0%	28.9 meses
<b>Nammour y cols.<sup>95</sup></b>	2017	Bélgica	2347	Seguimiento a largo plazo. (1) Escisión completa, profundidad tisular de 1 mm y 1 mm de tejido sano circundante (2) Escisión completa, profundidad tisular de 1 mm y 3 mm de tejido sano circundante (3) Similar al tercero, pero con lesiones grandes de leucoplasia con múltiples sesiones.	Láser CO2	(1) 30.3% (2) 2.7% (3) 28.1%	(1) 1%; (2) 0%; (3) 0.2%	72 meses
<b>Natekar y cols.<sup>71</sup></b>	2017	India	30	Evaluación comparativa de tres modalidades de tratamiento quirúrgico. (I) Láser de diodo; (II) Láser de CO2; (III) Criocirugía de óxido nítrico.	Láser CO2 Láser diodo	(I): 0% (II): 0% (III): 0%	NA	6 meses
<b>Monteiro y cols.<sup>66</sup></b>	2017	Portugal	87	Estudio clínico retrospectivo. Comparación entre 5 tratamientos quirúrgicos diferentes de leucoplasia oral. (1) Bisturí frío.17 casos; (2) Láser Nd:YAG 1064nm.14 casos; (3) Láser Er:YAG 2940nm. 33 casos; (4) Láser CO2 10600nm. 15 casos; (5)Bisturí QMR. 8 casos.	Láser Nd:YAG Láser ER:YAG; Láser CO2	(1): 47% (2): 35.7% (3): 15.2% (4): 26.7% (5): 25%	1.1%	21.6 meses

<b>Thomson y cols.</b> <sup>96</sup>	2017	UK	590	Estudio longitudinal de cohortes de pacientes con OPMD (468 leucoplasias orales).	Láser CO2	26% de 590	16.77% de 590	87 meses
<b>Galletta y cols.</b> <sup>67</sup>	2017	Brasil	49	Estudio prospectivo de leucoplasia oral.	Láser CO2 Láser diodo	27.5%	5%	22 meses
<b>Rabinovich y cols.</b> <sup>97</sup>	2016	Rusia	12	Estudio prospectivo de leucoplasia oral.	Láser diodo	58.3%	0%	12 meses
<b>Mogedas y cols.</b> <sup>98</sup>	2015	España	65	Estudio retrospectivo sin grupo de control de leucoplasia oral.	Láser CO2	33.8%	15.4%	15 meses
<b>Del Corso y cols.</b> <sup>99</sup>	2015	Italia	77	Grupo 1: 47 pacientes láser Nd:YAG. Grupo 2: 30 pacientes láser de CO2	Láser Nd:YAG Láser CO2	Nd:YAG:38.2% CO2:13.3%	Nd:YAG:3.9% CO2:0%	60 meses
<b>Matsumoto y cols.</b> <sup>100</sup>	2015	Japón	38	Se extirparon 35 leucoplasias y vaporizaron 3.	Láser CO2	10.5%	0%	120 meses
<b>Huang y cols.</b> <sup>101</sup>	2015	China	32	Comparación entre el láser de CO2 (22 pacientes) y el bisturí tradicional (10 pacientes)	Láser CO2	Láser CO2: 9% Bisturí: 10%	NA	12 meses
<b>Kundoor y cols.</b> <sup>102</sup>	2015	India	10	Estudio prospectivo sin grupo control (5 pacientes leucoplasia y 5 pacientes LPO).	Láser diodo	0%	NA	6 meses
<b>Rashid Kharadi y cols.</b> <sup>103</sup>	2015	India	10	Estudio piloto prospectivo sin grupo control.	Láser diodo	33.3% (2 pacientes)	0%	6 meses
<b>Pedrosa y cols.</b> <sup>104</sup>	2015	Portugal	59	Estudio prospectivo sin grupo control	Láser CO2	40.7%	10.2%	43.75 meses
<b>Brouns y cols.</b> <sup>105</sup>	2013	Países Bajos	35	Estudio prospectivo sin grupo control	Láser CO2	40%	14%	61.5 meses
<b>Chee y cols.</b> <sup>74</sup>	2013	Rep. Checa	76	Estudio prospectivo, diferentes zonas de la cavidad bucal.	Láser CO2	5.3%	NA	24 meses
<b>Jornet y cols.</b> <sup>77</sup>	2013	España	48	Ensayo clínico aleatorio. Comparación entre bisturí frío (n = 28) y láser CO2 (n = 20)	Láser CO2	NA	Bisturí:0% Láser:0%	27.9 meses
<b>Deppe y cols.</b> <sup>106</sup>	2012	Alemania	63	Grupo 1: Vaporización con láser de CO2 desenfocado; Grupo 2: Se empleó adicionalmente escáner; Grupo 3: vaporización realizada en el modo superpulsado. Se empleó escáner.	Láser CO2	(1): 0% (2): 15% (3): 14.2%	(1): 3.4% (2): 0% (3): 0%	42 meses
<b>Jerjes y cols.</b> <sup>107</sup>	2012	UK	65	Estudio prospectivo sin grupo control.	Láser CO2	19.5% (sin especificar leucoplasia o eritroplasia)	10.4%	76.8 meses
<b>Yang y cols.</b> <sup>108</sup>	2011	Taiwan	114	Estudio retrospectivo sin grupo control	Láser CO2	17.5%	11.4%	40.8 meses
<b>Lim y cols.</b> <sup>109</sup>	2010	Australia	94	Comparación entre el láser de potasio-titanil-fosfato (KTP) (35 casos) y el láser de CO2 (59 casos)	Láser KTP Láser CO2	KTP: 70.3% CO2: 35.9%	NA	60 meses
<b>Hamadah y cols.</b> <sup>110</sup>	2009	UK	46	Estudio prospectivo sin grupo control.	Láser CO2	17.3%	6.5%	58 meses
<b>Vivek y cols.</b> <sup>111</sup>	2008	India	28	Estudio prospectivo sin grupo control.	Láser Nd:YAG	7.1%	NA	36 meses
<b>Van der Hem y cols.</b> <sup>112</sup>	2005	Países Bajos	282	Estudio prospectivo sin grupo control.	Láser CO2	9.9%	1.1%	52 meses
<b>Chandu y cols.</b> <sup>113</sup>	2005	Australia	94	Estudio retrospectivo sin grupo control.	Láser CO2	28.9%	7.3%	47.2 meses
<b>Ishii y cols.</b> <sup>114</sup>	2004	Japón	97	Comparación entre la cirugía láser y la cirugía de escisión.	Láser CO2 Láser Nd:YAG Láser KTP	29%	4.1%	40 meses
<b>Thomson y cols.</b> <sup>115</sup>	2002	UK	55	Estudio prospectivo de lesiones orales con displasia (69% leucoplasias orales)	Láser CO2	24%	1.68%	18 meses
<b>Dunche y cols.</b> <sup>116</sup>	2000	Alemania	168	Estudio retrospectivo sin grupo control	Láser CO2	5%	1.5%	10-15 años
<b>Gooris y cols.</b> <sup>117</sup>	1999	Países Bajos	27	Estudio prospectivo sin grupo control.	Láser CO2	14.8%	0%	3-192 meses
<b>Huerta y cols.</b> <sup>118</sup>	1999	España	34	Estudio comparativo leucoplasia y LPO	Láser CO2	25.8%	NA	12 meses

<b>Schoelch y cols.</b> <sup>119</sup>	1999	USA	48	Estudio comparativo entre láser de CO2 (28 casos), láser Nd:YAG (12 casos) y ambos láseres (8 casos).	Láser CO2 Láser Nd:YAG	11%	3%	32 meses
<b>Pinheiro y cols.</b> <sup>120</sup>	1994	Brasil	26	Estudio retrospectivo sin grupo control.	Láser CO2	7.69%	NA	60 meses
<b>Chiesa y cols.</b> <sup>121</sup>	1993	Italia	167	Estudio retrospectivo sin grupo control.	Láser CO2	34.7%	3%	52 meses
<b>Roodenburg y cols.</b> <sup>122</sup>	1991	Países Bajos	103	Estudio prospectivo sin grupo control.	Láser CO2	10%	0%	63.6 meses
<b>Chu y cols.</b> <sup>123</sup>	1988	USA	38	Estudio retrospectivo sin grupo control.	Láser CO2	10.8%	2.6%	5 años
<b>Horch y cols.</b> <sup>124</sup>	1986	Alemania	50	Estudio prospectivo sin grupo control.	Láser CO2	22%	NA	37 meses
<b>Frame y cols.</b> <sup>125</sup>	1985	UK	75	Estudio retrospectivo sin grupo control.	Láser CO2	3.1%	0%	63.6 meses

En este estudio prospectivo realizamos el tratamiento por vaporización con láser de CO<sub>2</sub> de 48 leucoplasias orales de pacientes derivados a la Clínica Odontológica Universitaria del Hospital Morales Meseguer de Murcia, concretamente en la Unidad Docente de Medicina Bucal. La muestra comprende pacientes con un promedio de 61.3 años, de los cuales 25 son mujeres y 23 son hombres. No encontramos una asociación directa con otras patologías como diabetes ni con infecciones asociadas en la cavidad bucal, y el 70.7% son leucoplasias en pacientes que tienen sobrepeso-obesidad. Podría ser un indicador a analizar en futuros estudios de prevalencia de la leucoplasia oral, ya que, según la Sociedad Española de Cardiología, el 53.6% de los españoles tiene exceso de peso. Respecto a las variables de hábitos estudiadas en los pacientes con estas lesiones, tampoco encontramos una prevalencia elevada de ninguna de ellas: el 66.6% mantenía una buena higiene oral, el 87.5% no soporta ningún colutorio irritante para la mucosa oral, el 77.1% no es fumador, ningún paciente indico un consumo diario elevado de alcohol y sólo el 25% de las lesiones se presenta en pacientes con bruxismo nocturno. El uso de prótesis también fue estudiado, sin encontrar una asociación directa con la leucoplasia oral, ni en portadores de prótesis parcia removible (10.4%), prótesis fija (25%) o implantes (31.2%).

En cuanto al análisis de los parámetros clínico-patológicos relacionados con la leucoplasia oral, la forma clínica de leucoplasia no homogénea es la que se presenta en un porcentaje mayor, en el 62,5%, y la leucoplasia homogénea en el 37.5%. En el 54,2% la lesión tiene un tamaño inferior a 2cm y el 77,1% de las leucoplasias orales estudiadas no presenta displasia. La localización más frecuente es en mucosa masticatoria, en un 68,8% de los casos, seguida de la mucosa de revestimiento en el 27.1%, y de la mucosa

especializada en el 4.2%. Con estos datos podemos concluir que, en este estudio, la localización de la lesión no se asocia de forma estadísticamente significativa con la forma clínica ( $p = 0,107$ ).

A los 18 meses del inicio del tratamiento de las leucoplasias orales con láser de CO<sub>2</sub>, se realizó un análisis de los resultados finales y se observó un 43,7% de éxito en el tratamiento, es decir, no se observó patología en la zona tratada. En un 56,2% la leucoplasia oral sí recidivó de alguna manera, aunque en el 22.9% de esas recidivas se observó una mejora en el aspecto clínico: una reducción de tamaño o un cambio en la forma clínica pasando de ser leucoplasias no homogéneas a leucoplasias homogéneas (ya sea disminuyendo el grado de verrugosidad y/o de intensidad de zonas blancas dentro de la propia lesión). A estas leucoplasias orales las clasificamos como leucoplasias orales con recidiva leve, y al analizar la eficacia del tratamiento con la ayuda del programa informático ImageJ para obtener mayor información en cuanto al tamaño de las lesiones, podemos verificar que probablemente la recidiva leve se produce en la mayoría de los casos reduciendo el tamaño del área de la lesión en mm<sup>2</sup>. En el 31.2% de los tratamientos de vaporización el resultado fue nulo, observando una recidiva completa de la lesión, y el 2% derivó en un carcinoma oral de células escamosas.

Sería interesante ampliar esta línea de investigación aplicando más innovaciones informáticas para estimar la eficacia del tratamiento de leucoplasia como hemos encontrado en la bibliografía. Es posible aplicar el análisis de textura y el análisis de dimensión fractal (requieren conversión a escala de grises de las fotografías) para estimar la eficacia del tratamiento de la leucoplasia oral en las fotografías de las lesiones con el programa informático GNU Image Manipulation Program (GIMP). Para esto es necesario que todas las imágenes sean realizadas a la misma distancia de las lesiones y con un ángulo igual o lo más parecido posible<sup>87</sup>. Podría ser un método prometedor no sólo para estimar la eficacia del tratamiento, si no como método diagnóstico en la leucoplasia oral.

Para determinar el efecto de las variables relacionadas con la lesión y las variables de hábitos sobre la recidiva, se realizaron modelos de regresión logística univariante. Con respecto a las variables relacionadas con la lesión (forma clínica, localización, tamaño y displasia) los resultados de este estudio evidenciaron que ninguna de las variables tiene un efecto estadísticamente significativo en el curso de la recidiva. Lo mismo ocurre al estudiar las variables relacionadas con los hábitos de los pacientes (fumador, higiene

bucal, índice de masa corporal y bruxismo), los resultados tampoco evidenciaron ningún efecto estadísticamente significativo en el curso de la recidiva.

En 2019 Dong y cols.<sup>126</sup> realizaron un metaanálisis sobre la transformación maligna de las lesiones de leucoplasia oral tratadas exclusivamente con láser de CO<sub>2</sub> dando como resultado una tasa global de transformación maligna del 4,5%, en nuestro estudio es del 2%. Curiosamente, en esta revisión estadística se reveló que era el varón, con leucoplasia homogénea, que no consume tabaco ni alcohol quien tenía una mayor tendencia a la malignidad tras la cirugía láser de CO<sub>2</sub>. Sin embargo, este resultado carece de datos estadísticamente significativos.

Aunque la cirugía sigue siendo la primera opción para la mayoría de los clínicos en el tratamiento de la leucoplasia oral, no puede evaluarse la efectividad completa de dicho tratamiento ya que ninguno de los tratamientos médicos y quirúrgicos estudiados tiene tasas lo suficientemente bajas en la recurrencia de las lesiones ni en la prevención de la transformación maligna de las leucoplasias orales. Los tratamientos pueden ser efectivos en la resolución de las lesiones, sin embargo las recaídas y los efectos adversos son comunes. Por este motivo, los autores argumentan que la curación clínica de la leucoplasia después de su tratamiento no libera al clínico de la responsabilidad de hacer un seguimiento regular porque las recidivas son frecuentes y los carcinomas pueden evolucionar independientemente de las características clínicamente normales después de la cirugía<sup>5,25,52,56</sup>.

Favia y cols. (2021)<sup>127</sup> han publicado un artículo de un estudio retrospectivo sobre la transformación maligna de la leucoplasia verrugosa proliferativa dando como resultado que el estudio clínico prequirúrgico, el tratamiento quirúrgico posterior y el seguimiento son claves para el éxito de los pacientes afectados por LVP con transformación maligna en carcinoma de células escamosas oral y/o carcinoma verrucoso en estadio 1, lo que conlleva una elevada tasa de supervivencia global, sólo el 8,3% murieron por causas relacionadas con el tumor.

Las limitaciones en los estudios de los diferentes tratamientos de la leucoplasia oral suelen ser comunes. En primer lugar, el propio diseño del estudio, pues en la mayoría de estos estudios, incluido el presente, no existe grupo control ya que no se considera ético dejar a ningún paciente sin tratar por la ya comentada elevada probabilidad de progresión al cáncer respecto a los pacientes sanos. En segundo lugar, el tamaño de la muestra en

nuestro caso también puede ser una limitación. Aunque el estudio se alargue varios años, no es posible controlar la cantidad de pacientes con esta patología que llegan a las manos de nuestro departamento. Este trabajo ha estado limitado también por el cese de actividad presencial en los departamentos de la Universidad de Murcia por la situación sanitaria de excepción creada por COVID-19 y por la decisión de finalizar el estudio tras la reincorporación a la actividad clínica. En tercer lugar, el tiempo de seguimiento, pues varía mucho en los estudios analizados y suele ser aleatorio. Probablemente las tasas de recidiva y transformación maligna son muy dependientes a esta variable y cada estudio tiene un tiempo de seguimiento diferente. Y en cuarto lugar, la gran heterogeneidad entre los estudios debido a las diferencias en la finalidad, la muestra, las técnicas de tratamiento y de medidas de los resultados, el tiempo de seguimiento, las características clínicas e histopatológicas de las leucoplasias orales, etc, hace que los resultados de los estudios deban interpretarse con precaución y no podamos hacer una comparativa real entre estudios y entre técnicas quirúrgicas con láser para el tratamiento de la leucoplasia oral.

Referente a la técnica, en los últimos años se recomienda la ablación con láser de CO<sub>2</sub> de la leucoplasia oral con extensión de márgenes. La extensión recomendada de los márgenes debe ser de al menos 3 mm de ancho<sup>86,128</sup>.

Muchos de estos motivos y limitaciones en el tratamiento de las leucoplasias orales y de los OPMDs, están provocando un auge en el estudio de diferentes líneas de investigación para determinar el futuro y el desarrollo del cáncer. En la actualidad se necesitan cambios clínicos e histológicos para describir y clasificar una lesión oral, pero en el futuro se podrían incluir lesiones con aberraciones biológicas moleculares caracterizadas como marcas de malignidad presentes incluso en la mucosa oral clínica e histológicamente normal. Se considera que será el mejor método diagnóstico para una correcta identificación de la mucosa oral en riesgo de desarrollar cáncer oral<sup>56</sup>.

Como ya hemos nombrado anteriormente, por ahora el gold standard para el diagnóstico final se fundamenta en un biopsia del tejido sospechoso, con los inconvenientes que conlleva debido al carácter invasivo de la técnica<sup>42</sup>. Las biopsias líquidas (saliva, sangre, orina) o mínimamente invasivas (cepillado de la mucosa) son las alternativas más atractivas y prometedoras, nos aportan beneficios como el carácter no invasivo de la técnica, que no es modificable por el operador que realiza la técnica, es repetible y representa la heterogeneidad en los tejidos.



Desregulaciones en la expresión de los genes y de otros componentes clave en la regulación epigenética como los microARN (miRNAs) pueden comprometer la estabilidad genómica y activar distintas rutas de señalización implicadas en procesos clave celulares como son los procesos carcinogénicos y precancerosos. Con el uso de la tecnología de microarray, se pueden observar los cambios de expresión de miles de genes simultáneamente y con ellos encontrar posibles biomarcadores que nos hagan diferenciar si una lesión tiene mayor o menor riesgo de malignización. Estudios previos han tratado de identificar alteraciones en la expresión de genes y miRNAs en OPMD para correlacionarlo con la progresión a carcinoma oral<sup>47, 42, 48, 49</sup>.

En este estudio, realizamos un screening mediante microarray para encontrar alteraciones en la expresión génica entre pacientes sanos y con leucoplasia oral, con el fin de entender las características genéticas de esta lesión y encontrar alteraciones en el genoma que nos sirvan de marcadores de progresión de una lesión leucoplásica al desarrollo de cáncer oral. El procedimiento para tomar las muestras fue mediante saliva y exfoliado de la mucosa oral con lesión, y nos dieron un resultado de 944 y 649 genes que se expresaban de manera distinta respecto al control sano (DEGs) respectivamente.

Tras el análisis de ontología génica de los DEGs, descubrimos que las muestras de células exfoliadas orales mostraban una mayor actividad en procesos como la pigmentación y la unión de beta amiloide, así como en fenómenos relacionados con la síntesis de prolina, un componente fundamental del colágeno que, además, desempeña otras funciones importantes como regulador clave en muchos procesos fisiológicos como el estrés oxidativo, la señalización intracelular o la respuesta inmune<sup>129</sup>. A su vez, las muestras salivales mostraron una mayor actividad en cuanto a procesos relacionados con desintoxicación (actividad de la glicina N-aciltransferasa, desintoxicación de compuestos nitrogenados) y procesos de importancia en la función celular normal (regulación negativa de la transducción de señales de la proteína rho).

Al tratar de identificar posibles marcadores genéticos que puedan determinar el riesgo de una lesión a transformarse en una lesión cancerosa, la estrategia fue encaminada a buscar genes que coincidieran en términos de sobreexpresión o supresión tanto en nuestras muestras de leucoplasia oral como en la base de datos GEO, obtenidos en otros estudios que se realizaron con muestras de cáncer oral de células escamosas.

En las muestras de células exfoliadas orales encontramos que los genes CENPA, EXT1, HSP90B1, LY6E, TPST2, TRAM2, ALOX12, BLNK, DCT, GPX3, MGST2, PPL, PRELP, PTGER3, SNED1 y SORBS1 se repetían a lo largo de los 4 estudios y nuestras muestras, mientras que en saliva encontramos 9 genes coincidentes: MYDGF, PIK3CA, ADGRG6, ALDH9A1, C21orf2, N4BP2L1, SORBS1, SOX10 y UNC13B. Entre ellos podemos destacar varios genes de relevancia para el desarrollo del cáncer oral u otros tipos de cáncer anteriormente descritos en la literatura.

Los genes ALOX12, GPX3, MGST2 y ALDH9A1 se encontraban reprimidos en la leucoplasia oral y en el carcinoma oral de células escamosas, y son genes relacionados con el estrés oxidativo y detoxificación celular<sup>130,131</sup>. Los primeros tres son genes que participan en el metabolismo del ácido araquidónico<sup>132, 130</sup>, el cual está asociado a procesos inflamatorios relacionados con la carcinogénesis<sup>132</sup>; este sistema se encontró enriquecido en las rutas KEGG con nuestros DEGs. Pese a que la expresión de ALOX12 en otro tipo de cánceres está aumentada, no ocurre igual en el carcinoma oral de células escamosas y leucoplasia oral ya que se ha visto reprimida su expresión en distintos estudios<sup>47,49,130</sup>. Por otro lado, Glutathione peroxidase 3 (GPX3) ha sido considerado un gen supresor de tumores<sup>133</sup>, y una disminución de su expresión se ha asociado a un aumento de la respuesta inflamatoria en el carcinoma oral de células escamosas.

Prostaglandin E receptor 3 (PTGER3) es uno de los cuatro receptores de prostaglandinas que están relacionados con la inflamación y progresión tumoral. Misawa y cols. (2010)<sup>134</sup> observaron cómo en muestras de carcinoma escamoso de cabeza y cuello este gen se encontraba altamente metilado, contribuyendo a su desregulación.

Heat Shock Protein 90 Beta Family Member 1 (HSP90B1) pertenece a una familia de chaperonas moleculares, la cual asiste en el plegamiento de proteínas, entre ellas, proteínas que regulan el ciclo celular, proliferación y supervivencia de la célula. Es por ello por lo que se ha visto ampliamente desregulada en numerosos tipos de cáncer<sup>135</sup> y ha sido propuesto como gen de riesgo en carcinoma oral de células escamosas<sup>135,136</sup>.

Myeloid derived growth factor (MYDGF) está involucrado en la proliferación de células endoteliales y angiogénesis mediante la ruta de señalización MAPK1/3-, STAT3- y CCND1<sup>137</sup>.

B Cell linker protein (BLNK) codifica una proteína vital en el desarrollo de los linfocitos B, la cual conecta la activación de kinasas asociada al receptor de células B con rutas de señalización descendentes, influenciando a varios procesos biológicos. Previamente su represión se había relacionado con mecanismos de invasión perineural en carcinoma oral de células escamosas<sup>138</sup>.

La sobreexpresión de Translocation associated membrane protein 2 (TRAM2) se ha podido observar tanto en líneas celulares como tumores primarios de carcinoma oral de células escamosas. La aberrante expression induce la sobreproducción de MMPs, aumentando la invasión y migración transendotelial<sup>139</sup>.

El gen Lymphocyte antigen 6 complex, locus E (LY6E) y el oncogén PIK3CA, que se hallaban sobreexpresados en la leucoplasia oral, regulan la activación de la ruta PI3K/AKT, promueven el crecimiento, supervivencia y transformación celular además de aumentar la resistencia a los tratamientos<sup>140,141</sup>. Watanabe y cols. (2009)<sup>142</sup> observaron como la expresión de PI3K estaba aumentada 2.5 y 11 veces más en tejidos de displasia oral y cáncer oral de la lengua, respectivamente, frente a la del tejido sano. Además, pudimos observar que según los resultados de la red PPI, tanto PTGER3 como HSP90B1 interactuaban con AKT1, que forma parte de la ruta PI3K/AKT. Esta sobreexpresión del gen PIK3CA y la interacción de varios de los genes encontrados con esta ruta de señalización, sugiere que esta ruta podría tener un rol clave en el desarrollo del cáncer oral<sup>48, 143</sup>. También pudimos observar como en la red PPI, PIK3CA conectaba con otras proteínas importantes en procesos carcinogénicos, como HRAS o NRAS<sup>144</sup>. Además, en nuestras muestras de saliva, NRAS se encontraba desregulada respecto al control.

Según el estudio de Dikova et al.<sup>145</sup>, la IL-6, la IL-8, el TNF- $\alpha$ , el HCC-1 y el PF-4 (citoquinas salivales) pueden discriminar entre el carcinoma oral de células escamosas, la leucoplasia oral y los controles sanos. La IL-6 y el TNF- $\alpha$  pueden indicar la progresión del carcinoma oral de células escamosas, siendo distintivos en presencia de metástasis en el cuello.

Centromere protein A (CENPA) tiene un rol crucial en la estabilidad genómica mediante el mantenimiento de los centrómeros, y la sobreexpresión de este gen puede desembocar en procesos cancerígenos mediante el aumento en los errores de segregación del cromosoma<sup>146</sup>. Su expresión se ha visto aumentada en diversos tipos de cáncer, como

adenocarcinoma de pulmón<sup>147</sup> o carcinoma epitelial de ovario<sup>148</sup>, pero no ha sido descrito en carcinoma oral de células escamosas o leucoplasia oral anteriormente. Puede que una prolongada sobreexpresión de este gen conduzca a una inestabilidad cromosómica que transforme una lesión no invasiva a una con esas características.

SORBS1 fue el único gen que apareció en los dos tipos de muestras que obtuvimos. Aunque nunca se ha descrito este gen en carcinoma oral de células escamosas o leucoplasia oral, sí que se ha podido observar cómo en cáncer de mama y cervical su expresión se encontraba reprimida<sup>149, 150</sup>.

Fragmentos de ARN no codificante como los microARN (miRNAs) tienen un rol relevante sobre la epigenética del cáncer, pudiendo modular la expresión de otros genes<sup>151</sup>. Entre los 620 miRNAs involucrados en la regulación de los genes anteriormente comentados, vemos que el que más grados de relación tuvo fue miR-124-3p, que estaba relacionado con 12 de nuestros genes. Otros estudios también habían destacado la importancia de este miRNA en el carcinoma escamoso oral de la lengua<sup>152,153</sup>. Otro miRNA que destaca entre los hallados es miR-155-5p, que tenía relación con 11 de los genes comentados y cuya expresión se ha visto aumentada previamente en carcinoma oral de células escamosas<sup>154</sup>, y en un metaanálisis realizado por Troiano y cols. (2018)<sup>155</sup> se le ha considerado un factor de pronóstico para carcinoma oral de células escamosas.

Los DEGs entre un tipo de muestra y otra varían y reflejan la variabilidad del genoma en función del tejido elegido. Como se ha podido ver en estudios previos<sup>50, 156, 157</sup>, los DEGS son distintos entre los diferentes estudios, incluso en los que tomaron el mismo tipo de muestra, lo que refleja una dificultad de encontrar una “marca” de biomarcadores de referencia, por lo que parece que según el tipo de muestra podríamos esperar encontrar unos u otros genes alterados. Además, nos encontramos con otras limitaciones, como el bajo número de muestras para el estudio y la variabilidad entre la zona de los tejidos de las muestras.

La evaluación de los biomarcadores moleculares podría ser una potencial herramienta de control para filtrar pacientes que tengan riesgo de desarrollar un cáncer oral y hacerles un seguimiento más exhaustivo. Es necesario hacer más ensayos con un mayor número de muestras para evaluar la eficacia de estos marcadores y verificar la reproducibilidad de los experimentos.

Sobre las líneas de investigación presentes-futuras para el diagnóstico de la leucoplasia oral hay varios campos abiertos. En el artículo de García-Pola y cols. (2021)<sup>158</sup> se describe y propone el uso de inteligencia artificial, se están estudiando los cambios inmunológicos como el aumento de la infiltración de macrófagos polarizados M2 en las leucoplasias orales<sup>159</sup>, y se sigue investigando en el campo de la detección de genes q se expresan de manera diferente en la progresión de la leucoplasia oral y la leucoplasia verrugosa proliferativa a cáncer oral<sup>160,161</sup>, así como el estudio de citoquinas salivares para el diagnóstico del carcinoma oral de células escamosas<sup>145</sup>.

La ultrasonografía intraoral o ecografía se propone para la evaluación clínica temprana de la extensión de la mucosa oral de las lesiones potencialmente malignas de la cavidad oral<sup>162</sup>, tiene potencial en la determinación preoperatoria de la profundidad de invasión tumoral y puede proporcionar una guía adicional para la planificación óptima de la terapia para los pacientes de carcinoma oral de células escamosas. En el estudio de Li y cols. (2020)<sup>163</sup> también se concluye que las imágenes ecográficas pueden definir eficazmente la leucoplasia oral en la mucosa y medir el grosor de cada capa del epitelio, proporcionando pruebas de imagen para el diagnóstico clínico, la planificación del tratamiento y el seguimiento posterior. Además, pueden detectarse cambios adyacentes especiales como úlceras, infecciones y cambios cancerosos, y contribuir a evitar lesiones iatrogénicas innecesarias en la mucosa o la reaparición de la enfermedad después del tratamiento. Tiene como ventaja que puede realizarse con facilidad, lo que permite a los clínicos detectar lesiones pequeñas, no calcificadas o invisibles que son difíciles de diagnosticar<sup>164</sup>.

En cuanto al tratamiento de la leucoplasia oral, se están estudiando tratamientos alternativos como son la terapia fotodinámica asistida por láser (AFL-PDT) y el tratamiento con adenovirus recombinante p-53 (rAD-p53). Yao y cols. (2021)<sup>83</sup> han realizado un estudio piloto sobre la AFL-PDT sobre 44 pacientes encontrando una tasa de recidiva del 17% a los 12 meses después del tratamiento, con lo que concluyen que puede reducir eficazmente la recidiva con una alta eficacia clínica y buena tolerabilidad, lo que sugiere que puede ser un tratamiento prometedor. La revisión sistemática de Hosmani y cols. (2021)<sup>68</sup> se centra en los ensayos clínicos aleatorios del tratamiento con adenovirus recombinante p-53 (rAD-p53) para el tratamiento de la leucoplasia oral y el cáncer oral. Pueden concluir que esta terapia tiene un potencial de efectos terapéuticos beneficiosos y que los únicos efectos adversos notificados fueron fiebre, dolor en el lugar

de la inyección, síntomas gripales y disminución del recuento de glóbulos blancos. En ambas terapias es necesario realizar más ensayos clínicos con más pacientes para conocer mejor sus efectos y aprobarlas como tratamientos seguros y eficaces.

## **VII. CONCLUSIONES**

---

Tras la revisión y el estudio de los parámetros asociados a la leucoplasia oral y el tratamiento con láser de CO<sub>2</sub> de estas lesiones, podemos concluir con una serie de premisas:

- I. Los datos actuales de la tasa de transformación maligna anual y el porcentaje de carcinomas orales encontrados en los estudios histológicos de las leucoplasias orales sugieren que la biopsia y el examen histológico son esenciales para un correcto diagnóstico y plan de tratamiento.
- II. Las complicaciones en los tratamientos quirúrgicos con láser son mínimas. Las principales ventajas del uso del láser de CO<sub>2</sub> que hemos encontrado son la mínima inflamación, una cicatrización muy rápida de las heridas y un dolor postoperatorio leve.
- III. Las intervenciones quirúrgicas con el láser de CO<sub>2</sub> son relativamente sencillas y rápidas de realizar, pero requieren de un aprendizaje y entrenamiento previos por parte de los clínicos.
- IV. El tratamiento de la leucoplasia oral es un verdadero reto por las limitaciones que lleva consigo en cuanto a la recurrencia y la transformación maligna. Tras analizar los resultados obtenidos de las tasas de recurrencia en nuestro estudio del tratamiento con láser de CO<sub>2</sub>, podemos resaltar como fortaleza el beneficio que aporta respecto a la leve morbilidad asociada que conlleva.
- V. Los resultados de este estudio evidencian aparentemente que la localización de la lesión no se asocia de forma estadísticamente significativa con la forma clínica. Ninguna de las variables estudiadas tiene un efecto estadísticamente significativo en el curso de la recidiva.
- VI. El seguimiento de las leucoplasias orales tratadas es fundamental. Consideramos que podría ser de gran ayuda la clasificación de las recidivas para los seguimientos y protocolos de actuación futuros frente a esta patología.

Probablemente las tasas de recidiva y transformación maligna son muy dependientes al tiempo de seguimiento de las lesiones, lo que hace que los resultados de los estudios deban interpretarse con precaución.

- VII. La progresión de la leucoplasia oral a carcinoma oral de células escamosas parece tener un factor genético multifactorial que envuelve a numerosas rutas y genes. En este estudio hemos identificado genes que varían su expresión en la leucoplasia oral y que se encuentran también alterados en el carcinoma oral de células escamosas, por lo que una continua alteración en la expresión de estos genes podría tener un rol clave en la progresión de lesiones potencialmente malignas a cancerígenas. Además, hemos podido observar la importancia de la ruta PI3K/AKT en este proceso.



## VIII. REFERENCIAS

---

1. Warnakulasuriya S, Johnson NW, Van Der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med.* 2007;36(10):575-580. doi:10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x
2. Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-urizar J, et al. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis.* 2021;27:1862-1880.
3. Speight P, Khurram S, Kujan O. Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018;jun(125(6)):612-627.
4. Kramer I, Lucas R, Pindborg J, Sobin L. Definition of leukoplakia and related lesions: An aid to studies on oral precancer. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 1978;46(4):518-539. doi:10.1016/0030-4220(78)90383-3
5. Sociedad Española de Cirugía Bucal. Leucoplasia oral como enfermedad premaligna : diagnóstico , pronóstico y tratamiento. *Soc Española Cirugía Bucal.* Published online 2017:150.
6. Axell T, Holmstrup P, Kramer I, Pindborg J, Shear M. International seminar on oral leukoplakia and associated lesions related to tobacco habits. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1984;13(3):145-154.
7. Axell T, Pindborg J, Smith C, Van Der Waal I. Oral white lesions with special reference to precancerous and tobacco. *J Oral Pathol Med.* 1996;25(2):49-54.
8. Van der Waal I. Oral leukoplakia, the ongoing discussion on definition and terminology. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2015;20(6):e685-e692. doi:10.4317/medoral.21007
9. Sociedad Española de Cirugía Oral y Maxilofacial. *Cirugía oral y maxilofacial.*; 2004.
10. Petti S. Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: A systematic review. *Oral Oncol.* 2003;38(8):770–780. doi:doi:10.1016/S1368-8375(03)00102-7
11. Warnakulasuriya S, Ariyawardana A. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies. *J Oral Pathol Med.* 2016;45(3):155-166.
12. González-Moles M, González Ruiz L. Leucoplasia oral, una revisión de los aspectos esenciales de su diagnóstico y tratamiento. *Actual Medica.* 2018;803:49-51. doi:10.15568/am.2018.803.ao01
13. Liu W, Zhang Y, Wu L, Yang X, Shi L. Characteristics and trends of oral leukoplakia research: A bibliometric study of the 100 most cited articles. *Med (United States).* 2019;98(27). doi:10.1097/MD.00000000000016293
14. Lyu M, Guo Y, Li S, Yang D, Hua H. Hospital-based epidemiological and clinical characterisation of the malignant transformation of oral leukoplakia in a Chinese population. *Int Dent J.* 2017;67(4):252-259.
15. Cerero Lapiedra R, Baladé Martínez D, Moreno López L, Esparza Gomez G, Bagán J. Leucoplasia verrugosa proliferativa: Propuesta de criterios diagnósticos. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;13:276-282.
16. Arduino P, Bagan J, El-Naggar A, Carrozzo M. Urban legends series: Oral leukoplakia.

*Oral Dis.* 2013;19(7):642-659. doi:10.1111/odi.12065

17. Tenore G, Nuvoli A, Mohsen A, et al. Tobacco, alcohol and family history of cancer as risk factors of oral squamous cell carcinoma: Case-Control Retrospective Study. *Appl Sci.* 2020;10(11).
18. Petti S, Scully C. Association between different alcoholic beverages and leukoplakia among non- to moderate-drinking adults: a matched case-control study. *Eur J Cancer.* 2006;42(4):521-527.
19. Shiu M, Chen T, Chang S, Hahn L. Risk factors for leukoplakia and malignant transformation to oral carcinoma: a leukoplakia cohort in Taiwan. *Br J Cancer.* 2000;82:1871-1874.
20. Staines K, Rogers H. Oral leukoplakia and proliferative verrucous leukoplakia: A review for dental practitioners. *Br Dent J.* 2017;223(9):655-661. doi:10.1038/sj.bdj.2017.881
21. Yang S, Lee Y, Chang L, Hwang C, Chen T. Clinicopathological characteristics and treatment outcomes of oral leukoplakia by carbon dioxide laser excision in the elderly patients. *Head Neck.* 2020;42(5):1014-1023.
22. Meddeb M, Chokri A, Hammedi F, Masmoudi K, Hentati H, Selmi J. Oral leukoplakia : risk of malignant transformation and the importance of surgical excision. *Int Dent J Students Res.* 2016;4(3):123-127.
23. Brouns E, Baart J, Bloemena E, Karagozoglu H, Van Der Waal I. The relevance of uniform reporting in oral leukoplakia: Definition, certainty factor and staging based on experience with 275 patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18(1). doi:10.4317/medoral.18756
24. Martorell A, Botella R, JV B, Sanmartín O, Guillén C. Oral leukoplakia: clinical, histopathologic, and molecular features and therapeutic approach. *Actas Dermosifiliogr.* 2009;100(8):669-684.
25. Escribano M, Bascones A. Leucoplasia oral: Conceptos actuales Oral. *Av Odontoestomatol.* 2009;25(2):83-97.
26. Holmstrup P, Vedtofte P, J R, Stoltze A. Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. *Oral Oncol.* 2006;42:461-474.
27. Bagán J, Ceballos A, Bermejo A, Aguirre J, Peñarrocha M. *Medicina oral.* (Masson, ed.); 1995.
28. Hansen L, Olson J, JSilverman S. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 1985;60(3):285-298. doi:10.1016/0030-4220(85)90313-5
29. Torrejon-Moya A, Jané-Salas E, López-López J. Clinical manifestations of oral proliferative verrucous leukoplakia: A systematic review. *J Oral Pathol Med.* 2020;49:404-408.
30. Pentenero M, Meleti M, Vescovi P, Gandolfo S. Oral proliferative verrucous leucoplakia: Are there particular features for such an ambiguous entity? A systematic review. *Br J Dermatol.* Published online 2014:1039-1047.
31. Bagan J, Jimenez-Soriano Y, Diaz-Fernandez J, et al. Malignant transformation of proliferative verrucous leukoplakia to oral squamous cell carcinoma: a series of 55 cases. *Oral Oncol.* 2011;47(8):732-735.
32. Abadie W, Partington E, Fowler C, Schmalbach C. Optimal Management of Proliferative Verrucous Leukoplakia: A Systematic Review of the Literature.

- Otolaryngol Head Neck Surg (United States)*. 2015;153:504-511.
33. Palaia G, Bellisario A, Pampena R, R P, Romeo U. Oral proliferative verrucous leukoplakia: progression to malignancy and clinical implications: rystematic review and meta-analysis. *Cancers (Basel)*. 2021;13(16):4085.
  34. Carrard V, Brouns E, van der Waal I. Proliferative verrucous leukoplakia; a critical appraisal of the diagnostic criteria. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18:411-413.
  35. Gouvêa A, Santos Silva A, Speight P, et al. High incidence of DNA ploidy abnormalities and increased Mcm2 expression may predict malignant change in oral proliferative verrucous leukoplakia. *Histopathology*. 2013;62(4):551-562. doi:10.1111/his.12036
  36. Iocca O, Sollecito T., Alawi F, et al. Potentially malignant disorders of the oral cavity and oral dysplasia: A systematic review and meta-analysis of malignant transformation rate by subtype. *Head Neck*. 2020;42(3):539-555. doi:10.1002/hed.26006
  37. Bagan J, Scully C, Jimenez Y, Martorell M. Proliferative verrucous leukoplakia: A concise update. *oral Dis*. 2010;16:328-332. doi:10.1111/j.1601-0825.2009.01632.x
  38. Capella D, Gonçalves J, Abrantes A, Grando L, Daniel F. Proliferative verrucous leukoplakia: diagnosis, management and current advances. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2017;83(5):585-593. doi:10.1016/j.bjorl.2016.12.005
  39. González-Moles, M Warnakulasuriya S, Ramos-García P. Prognosis Parameters of Oral Carcinomas Developed in Proliferative Verrucous Leukoplakia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers (Basel)*. 2021;13(19):4843.
  40. Scully C, Sudbo J, Speight P. Progress in determining the malignant potential of oral lesions. *J Oral Pathol Med*. 2003;32(5):251-256.
  41. Napier SS, Cowan CG, Gregg TA, Stevenson M, Lamey PJ, Toner PG. Potentially malignant oral lesions in Northern Ireland: Size (extent) matters. *Oral Dis*. 2003;9(3):129-137. doi:10.1034/j.1601-0825.2003.02888.x
  42. Mazumder S, Datta S, Ray J, Chaudhuri K, Chatterjee R. Liquid biopsy: miRNA as a potential biomarker in oral cancer. *Cancer Epidemiol*. 2019;58:137-145.
  43. Bremmer J, Braakhuis B, Ruijter-schippers H, et al. A noninvasive genetic screening test to detect oral preneoplastic lesions. *Lab Invest*. 2005;85(12):1481-1488.
  44. Mithani S, Mydlarz W, Grumbine F, Smith I, Califano J. Molecular genetics of premalignant oral lesions. *Oral Dis*. 2007;13(2):126-133. doi:10.1111/j.1601-0825.2006.01349.x
  45. Lingen M. Screening for oral premalignancy and cancer: what platform and which biomarkers? *Cancer Prev Res*. 2012;3:1056-1059.
  46. Zhu G, He Y, Yang S, Chen B, Zhou M, Xu X. Identification of Gene and MicroRNA Signatures for Oral Cancer Developed from Oral Leukoplakia. *Biomed Res Int*. Published online 2015. doi:10.1155/2015/841956
  47. Russo A, Biselli-Chicote P, Kawasaki-Oyama R, et al. Differential expression of prostaglandin I2 synthase associated with arachidonic acid pathway in the oral squamous cell carcinoma. *J Oncol*. Published online 2018.
  48. Wan X, Li X, Yang J, et al. Genetic association between PIK3CA gene and oral squamous cell carcinoma: A case control study conducted in Chongqing, China. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(10):13360-13366.
  49. Bhosale P, Cristea S, Ambatipudi S, et al. Chromosomal Alterations and Gene

- Expression Changes Associated with the Progression of Leukoplakia to Advanced Gingivobuccal Cancer. *Transl Oncol.* 2017;10(3):396-409.
50. Kuribayashi Y, Morita K, Tomioka H, Uekusa M, Ito D, K O. Gene expression analysis by oligonucleotide microarray in oral leukoplakia. *J Oral Pathol Med.* 2009;39(4):356-361.
  51. Celentano A, Glurich I, Borgnakke W, Farah C. World Workshop on Oral Medicine VII: Prognostic biomarkers in oral leukoplakia and proliferative verrucous leukoplakia—A systematic review of retrospective studies. *Oral Dis.* 2021;27(4):848-880.
  52. Lodi G, Sardella, Bez C, Demarosi F, Carrassi A. Interventions for treating oral leukoplakia. En: *Cochrane Database of Systematic Reviews.* John Wiley & Sons, Ltd. ; 2004.
  53. Di Stasio D, Romano A, Russo D, et al. Photodynamic therapy using topical toluidine blue for the treatment of oral leukoplakia: A prospective case series. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020;31.
  54. Vohra F, Al-Kheraif A, Qadri T, et al. Efficacy of photodynamic therapy in the management of oral premalignant lesions. A systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015;12(1):150-159.
  55. Zhang Y, Zhan L, Yang D, Zhang G, Wang X. Treatment of oral refractory large área mucosal leukoplakia with CO2 laser combined with photodynamic therapy: case report. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017;20:193-195.
  56. Holmstrup P, Dabelsteen E. Oral leukoplakia—to treat or not to treat. *Oral Dis.* 2016;22(6):494-497. doi:10.1111/odi.12443
  57. García-Ortiz de Zárate F, España-Tost A, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. Aplicaciones del láser CO2 en Odontología. *RCOE.* 2004;9(5):567-576.
  58. Bornstein M, Winzap-Kälin C, Cochran D, Buser D. The CO2 laser for excisional biopsies of oral lesions: a case series study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2005;25(3):221-229. doi:10.11607/prd.00.0631
  59. Esparza Gomez G. Valoración de los diferentes tratamientos empleados en la leucoplasia oral. *Av Odontoestomatol.* 2008;24(1):105-109. doi:10.4321/s0213-12852008000100011
  60. Ferris R. Immunology and immunotherapy of head and neck cancer. *J Clin Oncol.* 2015;33:3293-3304.
  61. Chow L, Haddad R, Gupta S, et al. Antitumor activity of pembrolizumab in biomarker-unselected patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma: Results from the phase Ib KEYNOTE-012 expansion cohort. *J Clin Oncol.* 2016;34(32):3838-3845. doi:10.1200/JCO.2016.68.1478
  62. Yagyu T, Hatakeyama K, Imada M, et al. Programmed death ligand 1 (PD-L1) expression and tumor microenvironment: Implications for patients with oral precancerous lesions. *Oral Oncol.* 2017;68:36-43.
  63. Villa A, Sonis S. Oral leukoplakia remains a challenging condition. *Oral Dis.* 2018;24(1-2):179-183. doi:10.1111/odi.12781
  64. Oulton R, Harrinton L. Telomeres, telomerase, and cancer: life on the edge of genomic stability. *Curr Opin Oncol.* 200d. C.;12:74-81.
  65. Siebers T, Bergshoeff V, Otte-Höller I, et al. Chromosome instability predicts the progression of premalignant oral lesions. *Oral Oncol.* 2013;49(12):1121-1128. doi:10.1016/j.oraloncology.2013.09.006

66. Monteiro L, Barbieri C, Warnakulasuriya, S Martins M, et al. Type of surgical treatment and recurrence of oral leukoplakia: A retrospective clinical study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017;25(5):520-526.
67. Galletta V, Azevedo L, Lodi G, Migliari D. Factors affecting clinical outcomes after treatment of oral leukoplakia with CO2 and diode laser. *J Contemp Dent Pract*. 2017;18(9):775-780.
68. Hosmani J, Mushtaq S, Abullais S, et al. Recombinant Human Adenovirus- p53 Therapy for the Treatment of Oral Leukoplakia and Oral Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review. *Med*. 2021;57(5):438.
69. Parakh M, Ulaganambi S, Ashifa N, Premkumar R, Jain A. Oral potentially malignant disorders: clinical diagnosis and current screening aids: a narrative review. *Eur J cancer Prev*. 2020;29(1):65-72.
70. Wetzel S, Wollenberg J. Oral Potentially Malignant Disorders. *Dent Clin North Am*. 2020;64(1):25-37.
71. Natekar M, Raghuvver H, Rayapati D, et al. A comparative evaluation: Oral leukoplakia surgical management using diode laser, CO2 laser, and cryosurgery. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(6):779-784. doi:10.4317/jced.53602
72. España-Tost A, Arnabat-Domínguez J, Berini-Aytés L, C G-E. Aplicaciones del láser en Odontología. *RCOE*. 2004;9(5):497-511.
73. Tamarit-Borras M, Delgado-Molina E, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C. Removal of hyperplastic lesions of the oral cavity. A retrospective study of 128 cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10:151-162.
74. Chee M, Sasaki C. Carbon Dioxide Laser Fiber for the Excision of Oral Leukoplakia. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2013;122(9):547-549.
75. White J, Chaudhry S, Kudler J, Sekandari N, Schoelch M, Silverman S. Nd: YAG and CO2 laser therapy of oral mucosal lesions. *J Clin Laser Med Surg*. 1998;16(6):299-304.
76. Tambuwala A, Sangle A, Khan A, Sayed A. Excision of oral leukoplakia by CO2 lasers versus traditional scalpel: a comparative study. *J Maxillofac Oral Surg*. 2014;13(3):320-332.
77. López-Jornet P, Camacho-Alonso F. Comparison of pain and swelling after removal of oral leukoplakia with CO2 laser and cold knife: A randomized clinical trial. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18(1):e38-e44. doi:10.4317/medoral.17960
78. Liu R, Sun K, Wang Y, Jiang Y, Kang J, Ma H. Clinical comparison between Er: YAG and CO2 laser in treatment of oral tumorous lesions: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(30):20942.
79. de Pauli Paglioni M, Migliorati C, Schausltz Pereira Faustino I, et al. Laser excision of oral leukoplakia: Does it affect recurrence and malignant transformation? A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol*. 2020;12(109):104850. doi:10.1016/j.oraloncology.2020.104850
80. Mogedas-Vegara A, Hueto-Madrid J, Chimenos-Küstner E, Bescós-Atín C. Oral leukoplakia treatment with the carbon dioxide laser: A systematic review of the literature. *J Cranio-Maxillofacial Surg*. 2016;44(4):331-336. doi:10.1016/j.jcms.2016.01.026
81. Proaño-Haro A, Bagan L, Bagan J. Recurrences following treatment of proliferative verrucous leukoplakia: A systematic review and meta-analysis. *J Oral Pathol Med*.

- 2021;50(8):820-828.
82. Lafuente Ibáñez de Mendoza I, Lorenzo Pouso A, Aguirre Urizar J, et al. Malignant development of proliferative verrucous/multifocal leukoplakia: A critical systematic review, meta-analysis and proposal of diagnostic criteria. *J Oral Pathol Med*. Published online 2021. doi:10.1111/jop.13246
  83. Yao Y, Shi L, Wang Y, et al. Ablative fractional laser-assisted photodynamic therapy vs. ablative fractional laser for oral leukoplakia treatment: A randomized, controlled pilot study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2021;36.
  84. Yang S, Lee Y, Chang L, Yang C, Luo C, Wu P. Oral tongue leukoplakia: analysis of clinicopathological characteristics, treatment outcomes, and factors related to recurrence and malignant transformation. *Clin Oral Investig*. 2011;25(6):4045-4058.
  85. Yang S, Lee Y, Chang L, Yang C, Luo C. An anatomical perspective on clinicopathological characteristics and treatment outcomes of dorsal and ventrolateral tongue leukoplakia after carbon dioxide laser surgery. *BMC Oral Health*. 2021;21(1).
  86. Romeo U, Mohsen M, Palaia G, Bellisario A, Del Vecchio A, Tenore G. CO2 laser ablation of oral leukoplakia: with or without extension of margins? *Clin Ter*. 2020;171(3):209-215.
  87. Jurczynszyn K, Kozakiewicz M. Application of Texture and Fractal Dimension Analysis to Estimate Effectiveness of Oral Leukoplakia Treatment Using an Er:YAG Laser-A Prospective Study. *Materials (Basel)*. 2020;13(16).
  88. Yao Y, Shen X, Shi L, Tang G, Wu L. The combination of photodynamic therapy and fractional CO 2 laser for oral leukoplakia: Case series. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020;29.
  89. Matulić N, Bago I, Sušić M, Gjorgievska E, Kotacac Knežević A, Gabrić D. Comparison of Er:YAG and Er,Cr:YSGG Laser in the Treatment of Oral Leukoplakia Lesions Refractory to the Local Retinoid Therapy. *Photobiomodulation, Photomedicine, Laser Surg*. 2019;37(6):362-368.
  90. Lauritano D, Lucchese A, Gabrione F, Di Stasio D, Rangil J, Carinci F. The effectiveness of laser-assisted surgical excision of leukoplakias and hyperkeratosis of oral mucosa: A case series in a group of patients. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(1-12). doi:10.3390/ijerph16020210
  91. Gabrić D, Brailo V, Ivek A, et al. Evaluation of Innovative Digitally Controlled Er:Yag Laser in Surgical Treatment of Oral Leukoplakia - a Preliminary Study. *Acta Clin Croat*. 2019;58(4):615-620. doi:10.20471/acc.2019.58.04.07
  92. Yasmeeen S, Satheesha Reddy B, Ramesh M, Birajdar S, Yarram A, Kumar N. A comparative evaluation of diode laser ablation versus scalpel excision for management of oral leukoplakia. *J Indian Acad Oral Med Radiol*. 2019;31(2):94-99.
  93. Saibene A, Rosso C, Castellarin P, Vultaggio F, Pipolo C, Maccari A. Managing Benign and Malignant Oral Lesions with Carbon Dioxide Laser: Indications, Techniques, and Outcomes for Outpatient Surgery. *Surg J*. 2019;5(3):69-75.
  94. Cloitre A, Rosa R, Arrive E, Fricain J. Outcome of CO2 laser vaporization for oral potentially malignant disorders treatment. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal*. 2018;23(2):237-247.
  95. Nammour S, Zeinoun T, Namour A, Vanheusden A, Vescovi P. Evaluation of Different Laser-Supported Surgical Protocols for the Treatment of Oral Leukoplakia: A Long-Term Follow-Up. *Photomed Laser Surg*. 2017;35(11):629-638.

96. Thomson P, Goodson M, Cocks K, Turner J. Interventional laser surgery for oral potentially malignant disorders: a longitudinal patient cohort study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2017;46(3):337-342.
97. Rabinovich OF, Semkin VA, Kasparov AS, Agapitova LP, Bezrukov AA. Analysis of comprehensive treatment of oral leukoplakia by laser ablation. *Stomatologiia (Mosk).* 2016;95(6):33-35.
98. Mogedas-Vegara A, Hueto-Madrid J, Chimenos-Küstner E, Bescós-Atín C. The treatment of oral leukoplakia with the CO2 laser: A retrospective study of 65 patients. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2015;43(5):677-681. doi:10.1016/j.jcms.2015.03.011
99. Del Corso G, Gissi D, Tarsitano A, et al. Laser evaporation versus laser excision of oral leukoplakia: A retrospective study with long-term follow-up. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2015;43(6):763-768.
100. Matsumoto K, Suzuki H, Asai T, et al. Clinical investigation of carbon dioxide laser treatment for lingual leukoplakia. *J Oral Maxillofac Surgery, Med Pathol.* 2015;27(4):493-497.
101. Huang Z, Wang Y, Liang Q, Zhang L, Zhang D, Chen W. The application of a carbon dioxide laser in the treatment of superficial oral mucosa lesion. *J Craniofac Surg.* 2015;26(3):277-279.
102. Kundoor V, Patimeedi A, Roohi S, Maloth K, Kesidi S, Masabattula G. Efficacy of diode laser for the management of potentially malignant disorders. *J Lasers Med Sci.* 2015;6(3):120-123.
103. Rashid Kharadi U, Onkar S, Birangane R, Chaudhari S, Kulkarni A, Chaudhari R. Treatment of oral leukoplakia with diode laser: A pilot study on Indian subjects. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2015;16(18):8383-8386. doi:10.7314/APJCP.2015.16.18.8383
104. Pedrosa A, Santos A, Ferreira M, Araújo C, Barbosa R, Medeiros L. Is carbon dioxide laser vaporization a valuable tool in the management of oral leukoplakia? A survey at an oncology hospital. *Lasers Med Sci.* 2015;30(5):1629-1630.
105. Brouns E, Baart J, Karagozoglu K, Aartman I, Bloemena E, van der Waal I. Treatment results of CO2 laser vaporisation in a cohort of 35 patients with oral leukoplakia. *Oral Dis.* 2013;19(2):212-216.
106. Deppe H, Mücke T, Hohlweg-Majert B, Hauck W, Wagenpfeil S, Hölzle F. Different CO2 laser vaporization protocols for the therapy of oral precancerous lesions and precancerous conditions: a 10-year follow-up. *Lasers Med Sci.* 2012;27(1):59-63.
107. Jerjes W, Upile T, Hamdoon Z, et al. CO2 laser of oral dysplasia: clinicopathological features of recurrence and malignant transformation. *Lasers Med Sci Vol.* 2012;27:169-179.
108. Yang S, Tsai C, Lee Y, Chen T. Treatment outcome of dysplastic oral leukoplakia with carbon dioxide laser - Emphasis on the factors affecting recurrence. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69(6):78-87.
109. Lim B, Smith A, Chandu A. Treatment of Oral Leukoplakia With Carbon Dioxide and Potassium-Titanyl-Phosphate Lasers: A Comparison. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010;68(3):597-601.
110. Hamadah O, Thomson P. Factors affecting carbon dioxide laser treatment for oral precancer: A patient cohort study. *Lasers Surg Med.* 2009;41(1):17-25.
111. Vivek V, Jayasree R, Balan A, Sreelatha K, Gupta A. Three-year follow-up of oral

- leukoplakia after neodymium:yttrium aluminum garnet (Nd:YAG) laser surgery. *Lasers Med Sci* (. 2008;23(4):375-379.
112. Van Der Hem P, Nauta J, Van Der Wal J, Roodenburg J. The results of CO 2 laser surgery in patients with oral leukoplakia: A 25 year follow up. *Oral Oncol*. 2005;41(1):31-37. doi:10.1016/j.oraloncology.2004.06.010
  113. Chandu A, Smith A. The use of CO2 laser in the treatment of oral white patches: outcomes and factors affecting recurrence. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2005;34(4):396-400.
  114. Ishii J, Fujita K, Munemoto S, Komori T. Management of Oral Leukoplakia by Laser Surgery: Relation between Recurrence and Malignant Transformation and Clinicopathological Features. *J Clin Laser Med Surg*. 2004;22(1):27-33.
  115. Thomson P, J W. Interventional laser surgery: an effective surgical and diagnostic tool in oral precancer management. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2002;31(2):145-153.
  116. Dunsche A, Härle F. Precancer stages of the oral mucosa: a review. *Laryngorhinootologie*. 2000;79(7):423-427.
  117. Gooris P, Roodenburg J, Vermey A, J N. Carbon dioxide laser evaporation of leukoplakia of the lower lip: a retrospective evaluation. *Oral Oncol*. 1999;35(5):490-495.
  118. Huerta N, Bagán J, Cardona F, Lloria E, Jiménez Y, Basterra J. Oral lichen planus plaques and homogeneous leukoplasia: comparative results of treatment with CO2 laser. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 1999;50(7):543-547.
  119. Schoelch M, Sekandari N, Regezi J, Silverman S. Laser management of oral leukoplakias: A follow-up study of 70 patients. *Laryngoscope*. 1999;109(6):949-953.
  120. Pinheiro A, Frame J. An audit of CO2 laser surgery in the mouth. *Braz Dent J*. 1994;5(1):15-25.
  121. Chiesa F, Boracchi P, Tradati N, et al. Risk of preneoplastic and neoplastic events in operated oral leukoplakias. *oral Oncol Eur J Cancer*. 1993;29(1):23-28.
  122. Roodenburg J, Panders A, Vermey A. Carbon dioxide laser surgery of oral leukoplakia. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol*. 1991;71(6):670-674.
  123. Chu F, Silverman S, H D. Co2 laser treatment of oral leukoplakia. *Laryngoscope*. 1988;98(2):125-130.
  124. Horch H, Gerlach K, Schaefer H. CO2 laser surgery of oral premalignant lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1986;15(1):19-24.
  125. Frame J. Removal of oral soft tissue pathology with the CO2 laser. *J Oral Maxillofac Surg*. 1985;43(11):850-855.
  126. Dong Y, Chen Y, Tao Y, et al. Malignant transformation of oral leukoplakia treated with carbon dioxide laser: a meta-analysis. *Lasers Med Sci*. 2019;34(1):209-221. doi:10.1007/s10103-018-2674-7
  127. Favia G, Capodiferro S, Limongelli L, Tempesta A, Maiorano E. Malignant transformation of oral proliferative verrucous leukoplakia: a series of 48 patients with suggestions for management. *Int J Oral Maxillofac Surger*. 2021;50(1):14-20.
  128. Kuribayashi Y, Tsushima F, Sato M. Recurrence patterns of oral leukoplakia after curative surgical resection: important factors that predict the risk of recurrence and malignancy. *J Oral Pathol Med*. 2012;41(9):682-688.



129. Morgan A, Rubenstein E. Proline: The Distribution, Frequency, Positioning, and Common Functional Roles of Proline and Polyproline Sequences in the Human Proteome. *PLoS One*. 2013;8(1).
130. Pedro N, Biselli J, Maniglia J, et al. Candidate biomarkers for oral squamous cell carcinoma: Differential expression of oxidative stress-related genes. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2018;19(5):1343-1349.
131. Thulasingam M, Haeggström J. Integral Membrane Enzymes in Eicosanoid Metabolism: Structures, Mechanisms and Inhibitor Design. *J Mol Biol*. 2020;432(18):4999-5022.
132. Zheng Z, Li Y, Jin G, Huang T, Zou M, Duan S. The biological role of arachidonic acid 12-lipoxygenase (ALOX12) in various human diseases. *Biomed Pharmacother*. 2020;129.
133. Lee C, Pan K, Tang Y, et al. LDOC1 silenced by cigarette exposure and involved in oral neoplastic transformation. *Oncotarget*. 2015;6(28):25188-25201.
134. Misawa K, Mima M, Satoshi Y, et al. Prostanoid receptor genes confer poor prognosis in head and neck squamous cell carcinoma via epigenetic inactivation. *J Transl Med*. 2020;18(1):1-13.
135. Lin T, Qiu Y, Peng W, L P. Heat Shock Protein 90 Family Isoforms as Prognostic Biomarkers and Their Correlations with Immune Infiltration in Breast Cancer. *Biomed Res Int*. Published online 2020.
136. Sun W, Lv W, Lv H, Zhang R, Jiang Y. Genome-wide haplotype association analysis identifies SERPINB9, SERPINE2, GAK, and HSP90B1 as novel risk genes for oral squamous cell carcinoma. *Tumor Biol*. 2016;32(2):1845-1851.
137. Korf-Klingebiel M, Reboll M, Klede S, et al. Myeloid-derived growth factor (C19orf10) mediates cardiac repair following myocardial infarction. *Nat Med*. 2015;21(2):140-149.
138. Oliveira-Costa J, de Carvalho A, da Silveira G, et al. Gene expression patterns through oral squamous cell carcinoma development: PD-L1 expression in primary tumor and circulating tumor cells. *Oncotarget*. 2015;6(25):20902-20920.
139. Fukushima R, Kasamatsu A, Nakashima D, et al. Overexpression of translocation associated membrane protein 2 leading to cancer-associated matrix metalloproteinase activation as a putative metastatic factor for human oral cancer. *J Cancer*. 2018;9(18):3326-3333.
140. Hennessy B, Smith D, Ram P, Lu Y, Mills G. Exploiting the PI3K/AKT Pathway for Cancer Drug Discovery. *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4(12):988-1004.
141. Yeom C, Zeng L, Goto Y, et al. LY6E: A conductor of malignant tumor growth through modulation of the PTEN/PI3K/Akt/HIF-1 axis. *Oncotarget*. 2016;7(40):65837-65848.
142. Watanabe S, Sato K, Okazaki Y, Tonogi M, Tanaka Y, Yamane G. Activation of PI3K-AKT Pathway in Oral Epithelial Dysplasia and Early Cancer of Tongue. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2009;50(3):125-133.
143. Chen Y, Hou Q, Yan W, et al. PIK3CA is critical for the proliferation, invasiveness, and drug resistance of human tongue carcinoma cells. *Oncol Res*. 2012;19(12):563-571.
144. Murugan A, Munirajan A, Tsuchida N. Ras oncogenes in oral cancer: The past 20 years. *Oral Oncol*. 2012;48(5):383-392.
145. Dikova V, Jantus-Lewintre E, Bagan J. Potential Non-Invasive Biomarkers for Early Diagnosis of Oral Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Med*. 2021;10(8).

146. Mahlke M, Nechemia-arbely Y. Guarding the genome: Cenp-a-chromatin in health and cancer. *Genes (Basel)*. 2020;11(7):1-24.
147. Wu Q, Qian Y, Zhao X, et al. Expression and prognostic significance of centromere protein A in human lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2012;77(2):407-414.
148. Qiu J, Guo J, Lv T, et al. Prognostic value of centromere protein-A expression in patients with epithelial ovarian cancer. *Tumor Biol*. 2013;34(5):2971-2975.
149. Mei J, Xing Y, Lv J, Gu D, Pan J, Zhang Y. Construction of an immune-related gene signature for prediction of prognosis in patients with cervical cancer. *Int Immunopharmacol*. 2020;88(48).
150. Yu W, Li D, Zhang Y, Li C, Zhang C, Wang L. MiR-142-5p Acts as a Significant Regulator Through Promoting Proliferation, Invasion, and Migration in Breast Cancer Modulated by Targeting SORBS1. *Technol Cancer Res Treat*. 2019;18(1):1-11.
151. Castilho R, Squarize C, Almeida L. Epigenetic modifications and head and neck cancer: Implications for tumor progression and resistance to therapy. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7).
152. Xiong L, Tang Y, Tang J, Liu Z, Wang X. Downregulation of lncRNA HOTTIP Suppresses the Proliferation, Migration, and Invasion of Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma by Regulation of HMGA2-Mediated Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathway. *Cancer Biother Radiopharm*. 2020;35(9):720-730.
153. Zhang T, Liang L, X L, et al. LncRNA UCA1/miR-124 axis modulates TGF $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal transition and invasion of tongue cancer cells through JAG1/Notch signaling. *J Cell Biochem*. 2019;120(6):10495-10504.
154. Shi L, Zhang C, Zhou Z, et al. MicroRNA-155 in oral squamous cell carcinoma: Overexpression, localization, and prognostic potential. *Head Neck*. 2015;37(7):970-976.
155. Troiano G, Mastrangelo F, Caponio V, Laino L, Cirillo N, Lo Muzio L. Predictive Prognostic Value of Tissue-Based MicroRNA Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res*. 2018;97(7):759-766.
156. Conway C, Graham J, Chengot P, Daly C, Chalkley R, Ross L. Elucidating drivers of oral epithelial dysplasia formation and malignant transformation to cancer using RNAseq. *Oncotarget*. 2015;6(37):40186-40201.
157. Farah C, Fox S. Dysplastic oral leukoplakia is molecularly distinct from leukoplakia without dysplasia. *Oral Dis*. 2019;25(7):1715-1723.
158. García-Pola M, Pons-Fuster E, Suárez-Fernández C, Seoane-Romero J, Romero-Méndez A, López-Jornet P. Role of artificial intelligence in the early diagnosis of oral cancer. A scoping review. *Cancers (Basel)*. 2021;13(18):4600.
159. Weber M, Wehrhan F, Baran C, et al. Malignant transformation of oral leukoplakia is associated with macrophage polarization. *J Transl Med*. 2020;18(1).
160. Das D, Maitra A, Panda C, et al. Genes and pathways monotonically dysregulated during progression from normal through leukoplakia to gingivo-buccal oral cancer. *npj Genomic Med*. 2021;6(1).
161. Herreros-Pomares A, Llorens C, Soriano B, et al. Differentially methylated genes in proliferative verrucous leukoplakia reveal potential malignant biomarkers for oral squamous cell. *Oral Oncol*. 2021;116.
162. Romeo U, Fioravanti M, Fioravanti E, Rocchetti F, Tenore G. Color-Doppler ultrasound in the evaluation of oral lesions. *J Ultrasound*. 2017;20:351-352.

163. Li D, Tang Y, Shen X, Zhang W, Xiong P. Application of intraoral ultrasonic imaging in diagnosis and treatment of 18 patients with oral leukoplakia in non-masticatory mucosa. *Shanghai J Stomatol.* 2020;29(3):275-280.
164. Rocchetti F, Tenore G, Montori A, et al. Preoperative evaluation of tumor depth of invasion in oral squamous cell carcinoma with intraoral ultrasonography: a retrospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2021;131(1):130-138.



## **IX. ANEXOS**

---

**Anexo 1:** aprobación por parte de la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia (ID: 2225/2018)

## INFORME DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE MURCIA

Jaime Peris Riera, Catedrático de Universidad y Secretario de la  
Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia,

### CERTIFICA:

Que D.<sup>a</sup> Adela Rodríguez Luján ha presentado la memoria de  
trabajo de la Tesis Doctoral titulada "*Parametros clinico-  
patologicos y tratamiento de la leucoplasia oral mediante  
laser de CO<sub>2</sub>*", dirigida por D.<sup>a</sup> Pia López Jornet, a la

Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia.

Que dicha Comisión analizó toda la documentación presentada, y  
de conformidad con lo acordado el día trece de febrero de dos mil  
diecinueve<sup>1</sup>, por unanimidad, se emite **INFORME FAVORABLE**,  
desde el punto de vista ético de la investigación.

Y para que conste y tenga los efectos que correspondan firmo esta  
certificación con el visto bueno del Presidente de la Comisión.

Vº Bº EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE  
MURCIA

Fdo.: Francisco Esquembre Martínez  
ID: 2225/2018

Código seguro de verificación: RUxFMmHb-30tSg33f-  
gEu9hLhu-gKr58V1k

COPIA ELECTRÓNICA - Página 1 de 1

<sup>1</sup> A los efectos de lo establecido en el art. 19.5 de la Ley 40/2015 de 1 de octubre de  
Régimen Jurídico del Sector Público (B.O.E. 02-10), se advierte que el acta de la  
sesión citada está pendiente de aprobación

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento  
administrativo electrónico archivado por la Universidad de Murcia, según el artículo 27.3 c) de la Ley 39/2015, de 2  
de octubre. Su autenticidad puede ser contrastada a través de la siguiente dirección: <https://sede.um.es/validador/>



**Anexo 2:** aprobación por parte del Comité de Bioseguridad en Experimentación de la Universidad de Murcia (ID: CBE 181/2018)

## INFORME DEL COMITÉ DE BIOSEGURIDAD EN EXPERIMENTACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE MURCIA

Lucía Periago García, Jefa de Sección de Recursos Humanos de la Investigación y del Plan Propio y en funciones de Secretaria del Comité de Bioseguridad en Experimentación de la Universidad de Murcia

### CERTIFICA:

Que D.<sup>a</sup> Adela Rodríguez Lujan presentó la memoria de trabajo su Tesis doctoral titulada *"Parametros clínico-patológicos y tratamiento de la leucoplasia oral mediante laser de CO<sub>2</sub>"*, dirigida por D.<sup>a</sup> Pia López Jornet, al Comité de Bioseguridad en Experimentación.

Que dicho Comité analizó toda la documentación presentada, y de conformidad con lo acordado el día treinta de mayo de dos mil diecinueve<sup>2</sup>, por unanimidad, se emite INFORME FAVORABLE, desde el punto de vista ético de la bioseguridad en la investigación.

Y para que conste y tenga los efectos que correspondan, firmo esta certificación, con el visto bueno del Presidente de la Comisión.

Vº Bº EL PRESIDENTE DEL COMITÉ  
DE BIOSEGURIDAD EN EXPERIMENTACIÓN DE LA  
UNIVERSIDAD DE MURCIA

Fdo.: Francisco Esquembre Martínez ID: CBE 181/2018

Firmante: FRANCISCO ESQUEMBRE MARTINEZ. Fecha-hora: 12/06/2019 13:33:44. Emisor del certificado: CN=AC FNMT Usuarios, OU=Ceres, O=FNMT-RCM, C=ES.  
Firmante: LUCIA PERIAGO GARCIA. Fecha-hora: 12/06/2019 09:45:05. Emisor del certificado: CN=AC FNMT Usuarios, OU=Ceres, O=FNMT-RCM, C=ES.



Código seguro de verificación: RUxFMnYr-xD2ljAbO-I8UAYCwj-PITUc8Lz

COPIA ELECTRÓNICA - Página 1 de 1

<sup>2</sup> A los efectos de lo establecido en el art. 19.5 de la Ley 40/2015 de 1 de octubre de Régimen Jurídico del Sector Público (B.O.E. 02-10), se advierte que el acta de la sesión citada está pendiente de aprobación. Esta es una copia auténtica imprimible de un documento administrativo electrónico archivado por la Universidad de Murcia, según el artículo 27.3 c) de la Ley 39/2015, de 1 de octubre. Su autenticidad puede ser contrastada a través de la siguiente dirección: <https://sede.um.es/validador/>



**Anexo 3:** consentimiento informado para tratamiento de leucoplasia oral con láser de CO2.

## ANEXO I

### DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

D./Dña....., de ..... años de edad y con DNI nº ....., manifiesta que ha sido informado/a sobre los beneficios que podría suponer mi participación para cubrir los objetivos del Proyecto de Investigación titulado “**PARAMETROS CLINICO-PATOLOGICOS Y TRATAMIENTO DE LA LEUCOPLASIA ORAL MEDIANTE LASER DE CO2**”, dirigido por D. Pia Lopez Jornet (Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Murcia. El proyecto cuenta con el certificado del Comité Ético correspondiente), con el fin de mejorar los resultados clínicos.

He sido informado/a de los posibles perjuicios que la participación en dicho proyecto puede tener sobre mi bienestar y salud al haber leído la hoja de información al participante sobre el estudio citado.

He sido también informado/a de que mis datos personales serán sometidos a tratamiento en virtud de su consentimiento con fines de investigación científica por la Universidad de Murcia. El plazo de conservación de los datos será el mínimo indispensable para asegurar la realización del estudio o proyecto. No obstante, mis datos identificativos, para garantizar condiciones óptimas de privacidad, y cuando el procedimiento del estudio lo permita, podrían ser sometidos a anonimización o seudoanonimización. En todo caso, la información identificativa que se pudiese recabar será eliminada cuando no sea necesaria.

He sido informado/a de que para cualquier consulta relativa al tratamiento de sus datos personales en este estudio o para solicitar el acceso, rectificación, supresión, limitación u oposición al tratamiento podré dirigirme a la dirección [protecciondedatos@um.es](mailto:protecciondedatos@um.es). Asimismo he sido informado/a de mi derecho a presentar un reclamación ante la Agencia Española de Protección de Datos.

He sido también informado que puedo abandonar en cualquier momento mi participación en el estudio sin dar explicaciones y sin que ello me suponga perjuicio alguno. Se me ha entregado una hoja de información al participante y una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado. Tomando ello en consideración, **otorgo mi consentimiento** a que el tratamiento con láser tenga lugar y sea utilizado para cubrir los objetivos especificados en el proyecto.

**\*Nota: para aquellos casos en los que el sujeto participante sea menor de edad, persona en situación de discapacidad, o persona necesitada de especial protección<sup>3</sup>, se hará constar lo siguiente:** “Hago constar que he explicado las características y el objetivo del estudio, sus riesgos y beneficios potenciales a la persona responsable por la tutela del participante, que dicho participante ha sido informado de acuerdo a sus capacidades y que no hay oposición por su parte. El responsable legal<sup>3</sup> otorga su consentimiento por medio de su firma fechada en este documento. Murcia, a ..... de ..... de 20..... Fdo. D/Dña

<sup>3</sup> En caso de ser menor de edad, deberá acompañarse en todo caso del consentimiento informado expreso de ambos padres. Con carácter general, para el caso de menores, deberá recogerse la firma de ambos padres (o progenitores); en caso de firmar uno solo, indicará expresamente que el otro también ha sido informado y consiente en la participación del menor. Art. 25 del Código Penal (Ley Orgánica 1/2015)

**Anexo 4:** hoja de información a la persona participante sobre el proyecto.

HOJA DE INFORMACIÓN A LA PERSONA PARTICIPANTE sobre el proyecto  
PARAMETROS CLINICO-PATOLOGICOS Y TRATAMIENTO DE LA LEUCOPLASIA ORAL  
MEDIANTE LASER DE CO2

Estimado Sr. o Sra.:

Le invitamos a participar en un estudio de investigación sobre: PARAMETROS CLINICO-PATOLOGICOS Y TRATAMIENTO DE LA LEUCOPLASIA ORAL MEDIANTE LASER DE CO2.

Lugar donde se procesará la muestra o toma de datos: Clínica Odontológica Universitaria. Unidad de Medicina Bucal Hospital Morales Meseguer

*Objetivos y finalidad:* La leucoplasia oral (LO) es considerada como la lesión con más potencial maligno de la cavidad oral y se asocia con el desarrollo de carcinoma oral de células escamosas con una tasa de transformación maligna anual del 2-3% El tratamiento más recomendado de la LEUCOPLASIA ORAL es su eliminación quirúrgica mediante el láser de CO<sub>2</sub>. El proyecto cuenta con el informe favorable de la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia

*Datos de los investigadores:* ante cualquier duda o renuncia que pueda surgir en relación con su participación en la presente investigación, pueden dirigirse a la persona responsable de la misma, cuyos datos son los siguientes:

- ADELA RODRIGUEZ LUJAN. Odontóloga
- PIA LOPEZ JORNET. Medico estomatólogo
- Hospital Morales Meseguer. Clinica Odontológica. Av Marques Velez s/n Murcia 30008
- Tel 868888588 email: majornet@um.es

*Datos referentes al participante:*

- Es una oportunidad para la mejora en el tratamiento de su lesión.
- El participante es libre de participar, de modo que se puede negar a participar sin que ello le suponga ninguna merma en los potenciales beneficios a que tendría derecho en caso contrario.
- Se valorará los datos clínicos el día Inicial, a los 15 días y al mes del tratamiento; y se realizará un seguimiento a los dos y 6 meses de finalización del tratamiento.
- Beneficios potenciales para el sujeto por su participación: Control y seguimiento de su enfermedad.
- Beneficios generales de la investigación: Mejora en la detección precoz de recidiva y transformación maligna de la leucoplasia oral.
- Es responsabilidad del equipo investigador de proporcionar asistencia sanitaria a los participantes, en cuanto al tratamiento local de la lesión.
- Al final del estudio, el participante podrá conocer los resultados generales del estudio y los resultados individuales que le puedan afectar, si consiente a ello.
- Posibilidad de que la investigación dé lugar a productos de interés comercial y, en ese caso, la renuncia del participante a cualquier derecho de naturaleza económica, patrimonial o potestativa sobre los resultados o potenciales beneficios que puedan derivarse de manera directa o indirecta de las investigaciones que se lleven a cabo con la muestra que cede para investigación.

*Riesgos e Inconvenientes para el participante:*

- Descripción sucinta del procedimiento de obtención de muestra:
  1. Citología por frotis de la leucoplasia oral: no produce ninguna sintomatología.
  2. Vaporización con láser de CO<sub>2</sub> de la leucoplasia oral: produce herida superficial de la mucosa en la zona de la leucoplasia.
- Posibilidad de ser contactado con posterioridad a fin de recabar nuevos datos u obtener nuevas muestras, para lo que podrá solicitársele información sobre el modo de hacerlo. En todo caso el paciente siempre cuenta con la potestad de negarse a participar en posteriores requerimientos.
- Extensión y duración de los procedimientos. 40-50 minutos

*Derecho de los participantes:*

- Derecho a la revocación del consentimiento y sus efectos, incluida la posibilidad de la destrucción o de la anonimización de la muestra y de que tales efectos no se extenderán a los datos resultantes de las investigaciones que ya se hayan llevado a cabo. El modo en que el participante puede ejercer el derecho de retracto sería dirigiéndose a cualquiera de los investigadores de forma formal y escrita.
- Posibilidad de contactar con los investigadores en cualquier momento y, especialmente, en caso de aparición de efecto adverso imprevisto.
- Derecho a decidir el destino de sus muestras y datos personales en caso de retirarse del estudio.
- Derecho a que se vuelva a pedir su consentimiento si se desea utilizar la muestra en estudios posteriores.
- Los datos de carácter personal solicitados y facilitados por usted, son incorporados a un fichero de titularidad privada cuyo responsable y únicos destinatarios son los investigadores de este estudio arriba mencionados. Los datos que facilita serán incluidos en el estudio con la finalidad de recopilar datos estadísticos para la mejora en la detección precoz de recidiva y transformación maligna de la leucoplasia oral. Existe la posibilidad de ejercitar los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición, indicándolo por escrito a los responsables de este estudio.

*Información sobre los datos / la muestra donada:*

- El almacenamiento previo estudio de las muestras es por “anonimización” (proceso por el cual no es posible establecer relación entre un dato o muestra y el sujeto al que se refiere).
- Las muestras no son almacenadas tras su estudio.
- El donante no tiene la posibilidad de incluir alguna restricción sobre el uso de sus muestras.
- En aquellas investigaciones o estudios en los que se vayan a someter a tratamiento datos de carácter personal los investigadores podrán solicitar, asesoramiento en materia de cumplimiento del marco jurídico de la protección de datos dirigiéndose a la dirección [protecciondedatos@um.es](mailto:protecciondedatos@um.es).

En consecuencia, le solicitamos que firme y entregue la hoja de consentimiento informado que se adjunta.

Firmado:

En nombre del equipo investigador  
Adela Rodriguez Lujan Odontóloga  
Pia López Jornet Medico estomatólogo

**Anexo 5:** historia clínica específica que incluye una descripción de la lesión.



DEPARTAMENTO DE MEDICINA BUCAL  
CLINICA ODONTOLOGICA UNIVERSITARIA

## TRATAMIENTO DE LEUCOPLASIA CON LASER DE DIOXIDO DE CARBONO

### DATOS GENERALES:

Código:

Historia clínica:

Nombre:

Apellidos:

Fecha de nacimiento:

Teléfono:

Enfermedades:

Fármacos:

### FACTORES DE RIESGO:

Fumador:	No	< 10 cigarrillos/día	>10 cigarrillos/día
Consumo de alcohol:	Nada	Semanal	Diario
Higiene bucal:	Buena	Aceptable	Mala
Diabetes:	No	Si	
Infecciones asociadas:	Candida	VPH	VEB
Prótesis dental fija o removible:			
Implantes:			
Colutorio:			
Índice de masa corporal:			
Parafunción:			

### DESCRIPCION DE LA LESION:

Fecha de inicio aproximada:

Forma clínica:

Localización:

Tipo de mucosa:

Tamaño:

Fecha de la biopsia:

Histopatología:

Presencia de otras lesiones orales:

**Anexo 6:** registro del tratamiento con láser de CO2 según la localización de la lesión: mucosa de revestimiento, mucosa masticatoria y mucosa especializada.









**Anexo 7:** instrucciones postoperatorias en las intervenciones con láser de dióxido de carbono.



## INSTRUCCIONES POSTOPERATORIAS EN INTERVENCIONES CON LASER DE DIOXIDO DE CARBONO

### PARA HOY:

- PRESIONAR LA GASA DURANTE 30 MINUTOS. SI PERSISTE SANGRADO AL RETIRARLA, COLOQUE OTRA GASA DURANTE 30 MINUTOS MAS.
- HIELO LOCAL SI LA ZONA LO PERMITE, (DOS MINUTOS SI, DOS MINUTOS NO), LAS DOS HORAS SIGUIENTES A LA INTERVENCION.
- NO ENJUAGARSE NI ESCUPIR HASTA MAÑANA
- ALIMENTACION: LIQUIDOS FRIOS.
- **NO FUMAR.**

### PARA MAÑANA:

- MEDICACION: **APLIQUE EL GEL INDICADO 3 VECES/DIA DURANTE 10 DIAS.**
- ALIMENTACION BLANDA 5-7 DIAS.
- HIGIENE ORAL: LA HABITUAL, EVITANDO CEPILLAR LA ZONA OPERADA.
- PUEDE TENER INFLAMACION Y DOLOR EN LA ZONA.
- REGRESAR EL DIA INDICADO PARA REVION DE LA HERIDA: .....





---