

**REPÚBLICA DOMINICANA
UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE ODONTOLOGÍA**



**DETECCIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL ONCOGEN p16 Y GENOTIPIFICACIÓN
DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO EN LEUCOPLASIA VERRUCOSA
PROLIFERATIVA ORAL EN UNA POBLACIÓN DE REPÚBLICA DOMINICANA**

TRABAJO FINAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN ODONTOLOGÍA

Sustentantes

Karina Pérez 21-0864
Maria A. Parra 21-0130

Docente Especializado

Dra. Helen Rivera

Los conceptos expuestos
en la presente
investigación son de la
exclusiva responsabilidad
de los autores.

Docente Titular

Dra. Helen Rivera

**Santo Domingo, DN.
3 de Agosto del 2024**

Resumen

Se realizó un estudio prospectivo experimental transversal que abarcó 12 individuos que acudieron al Instituto Dermatológico Dominicano y Cirugía de piel Dr. Huberto Bogaert (IDCP) y del Laboratorio de Histopatología del mismo, que fueron diagnosticados con leucoplasia verrucosa proliferativa alta a través de biopsia y cuadro clínico en el año 2018-2024. El objetivo consistió en determinar la expresión del oncogen p16 en la leucoplasia verrucosa proliferativa oral de una población en República Dominicana. De los 12 pacientes del estudio se observó el predominio de edad de más de 60 años 58.3% (n=7). Hubo una mayor distribución del género femenino 91.7% (n=11), mientras que el 8.3% (n=1) era del género masculino. El diagnóstico histopatológico más común fue la acantosis 91.7% (n=11), seguido de displasia leve 83.3% (n=10), finalmente ortoqueratosis y paraqueratosis 50% (n=6). Los diagnósticos clínicos más frecuentes fueron la leucoplasia verrucosa 91.7% (n=11) y el carcinoma verrucoso 8,3% (n=1). La zona anatómica más frecuente fue el dorso de la lengua 50% (n=6), el paladar duro y el carrillo 25% (n=3), paladar blando, la mucosa alveolar, la base de lengua y el labio inferior 16.7% (n=2). Con respecto al oncogen p16 el 38.9% (n=7) resultó positivo al mismo. Los pacientes con diagnóstico de LVPO que presentan expresión del oncogen p16 muestran un mayor riesgo de transformación a carcinoma oral.

Palabras clave: Leucoplasia Verrucosa Proliferativa Oral, Oncogén p16, Expresión del Oncogén p16, Genotipificación, Detección Molecular.

Abstract

A prospective cross-sectional experimental study was carried out that included 12 individuals who attended the Dominican Dermatological Institute and Skin Surgery “Dr. Huberto Bogaert” (IDCP) and the Histopathology Laboratory, who were diagnosed with oral proliferative verrucous leukoplakia 2018-2024. The objective was to determine the expression of the p16 oncogene in oral proliferative verrucous leukoplakia. The study consisted of 12 patients in the study, the predominance age was 60 years or more years in 58.3% (n=7). There was a predominance in females 91.7% (n=11), while 8.3% (n=1) were male. The most common histopathological diagnosis made was acanthosis 91.7% (n=11), followed by mild dysplasia 83.3% (n=10), finally orthokeratosis and parakeratosis 50% (n=6). The most frequent clinical diagnoses were verrucous leukoplakia 91.7% (n=11) and verrucous carcinoma 8.3% (n=1). The most common anatomical site was the base of the tongue 50% (n=6), the hard palate and buccal mucosa 25% (n=3), the soft palate, the alveolar mucosa, the base of the tongue and the lower lip 16.7%. (n=2). Regarding the p16 oncogene, expression 38.9% (n=7) were. Patients diagnosed with LVPO who present expression of the p16 oncogene show a higher HPV positivity by molecular genotyping of transformation to oral carcinoma.

Keywords: Oral Proliferative Verrucous Leukoplakia, Expression of Oncogene p16, Genotyping, HPV, Molecular Detection, Dominican population..

Agradecimientos y dedicatoria

A Dios, por darme la fuerza, la sabiduría y la perseverancia para alcanzar esta meta. Agradezco su guía y bendiciones, que han sido fundamentales en mi vida y en la realización de esta tesis. Sin Su presencia en mi vida, nada de esto hubiera sido posible.

A mis padres, por su amor incondicional y apoyo constante a lo largo de mi vida. Gracias por enseñarme el valor del esfuerzo, la dedicación y la perseverancia. Su confianza en mí ha sido mi mayor motivación para superar los desafíos y alcanzar esta meta. Sin su guía y sacrificio, nada de esto hubiera sido posible. Les estaré eternamente agradecida por todo lo que han hecho por mí, los amo con todo mi corazón.

A mis abuelos, que ahora están en el cielo, por su amor y sabiduría que siempre guiarán mi vida. Aunque no estén físicamente presentes, siento su apoyo y bendiciones en cada momento. Sus enseñanzas y valores han dejado una huella imborrable en mi corazón, y les dedico este logro con amor y gratitud como se los prometí.

A mi novio, por su paciencia, comprensión y amor inagotable. Gracias por estar a mi lado en cada paso de este camino, por ser mi compañero en los momentos difíciles y por celebrar conmigo en los logros. Tu apoyo y aliento han sido una fuente constante de inspiración y fortaleza para mí. Estoy profundamente agradecida por tu presencia en mi vida.

A la Dra. Helen Rivera, por su invaluable orientación, conocimiento y apoyo a lo largo de este proceso. Gracias por su dedicación, paciencia y compromiso con mi formación académica. Sus consejos y su guía han sido fundamentales para la realización de esta tesis, y estoy profundamente agradecida por su influencia positiva en mi vida profesional.

A todos ustedes, les agradezco de todo corazón por ser mi pilar y mi esperanza. Este logro es tan suyo como mío, y les dedico esta tesis con todo mi amor y gratitud.

Karina Pérez

Agradecimientos

Al concluir este significativo capítulo de mi vida académica, deseo expresar mi más profunda gratitud a todas las personas que han hecho posible este logro.

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia, especialmente a mi madre, quien ha sido el pilar fundamental de mi existencia y el motor que impulsa mis sueños. Mamá, tu apoyo incondicional, tu amor infinito y tu incansable dedicación han sido la fuerza que me ha permitido llegar hasta aquí. Cada sacrificio que has hecho, cada palabra de aliento y cada gesto de cariño han sido invaluable. Este logro es tan tuyo como mío.

A mis estimados docentes, les expreso mi sincero agradecimiento. Sus enseñanzas han sido la luz que ha guiado mi camino académico. Su sabiduría, rigor y precisión en el conocimiento que han compartido conmigo han sido fundamentales en mi formación. Llevaré conmigo sus valiosas lecciones a lo largo de mi trayectoria profesional. Gracias por su paciencia, dedicación y por compartir su experiencia de manera tan generosa y profesional.

A mis compañeros de clase, mis queridos amigos y compañeros de viaje en esta maravillosa aventura académica. Hoy, al cerrar este capítulo tan importante de nuestras vidas, no puedo dejar de recordar con cariño las incontables tardes de estudio compartidas, las horas de trabajo en equipo y el apoyo mutuo que nos brindamos en los momentos más desafiantes. Su amistad, constancia y solidaridad han sido un regalo invaluable en este recorrido. Gracias por estar siempre presentes, por su apoyo incondicional y por hacer de esta experiencia algo verdaderamente especial.

A mi tutora de tesis, Helen Rivera, le extiendo un agradecimiento especial. Su guía experta, paciencia infinita y dedicación constante han sido cruciales en la realización de este trabajo. Sus consejos siempre acertados y su apoyo incondicional fueron la brújula que me orientó a mi y a mi compañera cuando las ideas parecían esquivas. Su profesionalismo y aportes han enriquecido enormemente esta investigación, y estoy profundamente agradecida por haber contado con su mentoría.

Para concluir, quisiera compartir una frase que resume el sentimiento que me embarga al finalizar esta etapa:

"El éxito no es el final, el fracaso no es fatal: es el coraje para continuar lo que cuenta." -
Winston Churchill

Este trabajo de tesis no es solo un logro académico, sino un testimonio de perseverancia, aprendizaje y crecimiento personal. Gracias a todos los que han sido parte de este viaje.

Maria A. Parra

Índice

Resumen
Abstract
Agradecimientos y dedicatoria	4
1. Introducción	11
2. Planteamiento del problema.....	13
2.1 Preguntas de investigación	14
3. Objetivos del estudio.....	15
3.1 Objetivo general.....	15
3.2 Objetivos específicos	15
4. Marco Teórico.....	16
4.1 Antecedentes históricos	16
4.2 Desórdenes orales potencialmente malignos y su clasificación.....	18
4.2.1 <i>Eritroplasia</i>	18
4.2.2 <i>Eritroleucoplasia</i>	18
4.2.3 <i>Liquen plano</i>	18
4.2.4 <i>Queilitis actínica</i>	19
4.2.5 <i>Leucoplasia</i>	19
4.3 Leucoplasia oral homogénea	19
4.4 Leucoplasia oral no homogénea.....	21
4.5 Leucoplasia verrucosa proliferativa oral.....	22

4.6 Diagnósticos diferenciales clínicos de la LVPO.....	25
4.6.1 Candidiasis oral.....	25
4.6.2 Papiloma oral.....	25
4.6.3 Neoplasias epiteliales malignas	25
4.6.4 Leucoplasia verrucosa oral.....	26
4.6.5 Liquen plano oral.....	26
4.6.6 Leucoplasia oral común.....	26
4.7 Diagnósticos diferenciales histopatológicos de la LVP.....	26
4.7.1 Liquen plano.....	26
4.7.2 Leucoplasia idiopática.....	26
4.7.3 Candidiasis crónica.....	27
4.7.4 Displasia oral.....	27
4.7.5 Papiloma oral.....	27
4.7.6 Carcinoma verrucoso oral.....	27
4.8 Diagnóstico e histopatología de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral.....	27
4.8.1 <i>Hiperqueratosis, paraqueratosis y ortoqueratosis</i>	27
4.8.2 <i>Acantosis</i>	28
4.8.3 <i>Papilomatosis</i>	28
4.8.4 <i>Displasia epitelial</i>	28
4.8.5 <i>Inflamación crónica</i>	28

4.9 Etiología y factores de riesgo de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral.....	33
4.10 Genes de supresión tumoral y Oncogenes.....	36
4.11 Oncogen p16 y su relación con la leucoplasia verrucosa proliferativa oral.....	37
4.12 Inmunohistoquímica y virus del papiloma humano.....	39
4.13 Inmunohistoquímica para evaluar expresión del oncogen p16.....	40
4.14 Tratamientos de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral.....	41
4.14.1 Cese del tabaquismo y consumo de alcohol.....	41
4.14.2 Eliminación de irritantes locales.....	41
4.14.3 Cirugía.....	41
4.14.4 Terapia láser.....	42
4.14.5 Seguimiento y vigilancia.....	42
4.14.6 Tratamientos complementarios.....	43
5. Formulación de hipótesis.....	44
6. Marco metodológico.....	44
6.1 Tipo de estudio.....	44
6.2 Población y muestra.....	44
6.3 Selección de muestra.....	44
6.4 Criterios de inclusión.....	45
6.5 Criterios de exclusión.....	45
6.6 Operacionalización de las variables.....	46

6.7 Aspecto éticos.....	48
6.8 Métodos e instrumento de recolección de datos.....	48
6.9 Plan de análisis de los resultados.....	49
7. Análisis de resultados	52
8. Discusión.....	67
8. Conclusiones.....	74
9. Recomendaciones.....	76
10. Prospectiva.....	77
11. Referencias bibliográficas.....	78

1. Introducción

La leucoplasia verrucosa proliferativa oral constituye una variante particularmente agresiva de leucoplasia oral que se categoriza como una lesión con potencial de malignización.¹ En un inicio se identificó como una forma única de leucoplasia oral, que se manifiesta inicialmente como una placa blanca y evoluciona hacia lesiones multifocales de crecimiento lento, resistentes a diversos tratamientos, incluida la cirugía, y con una alta probabilidad de recurrencia y potencial para convertirse en cáncer oral.²

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2005 la caracterizó como "una forma clínica rara pero distintiva de lesiones precursoras orales de alto riesgo". A pesar de los estudios realizados sobre las características y la propensión de la leucoplasia verrucosa oral a convertirse en carcinoma oral, sigue siendo una enfermedad de etiología controversial.³ Aunque se han publicado artículos sobre los criterios de diagnóstico de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral, estos pueden no ser precisos para detectar presentaciones tempranas de la enfermedad, tanto desde el punto de vista clínico como histopatológico.⁴

Dado lo anteriormente expuesto, surge la iniciativa de realizar este estudio para la detección mediante marcadores genéticos, los cuales con el pasar de los años han sido investigados por la asociación de los genes de supresión tumoral con el desarrollo de lesiones potencialmente malignas, como lo es la leucoplasia verrucosa proliferativa oral. Estas mutaciones genéticas pueden desempeñar un papel crucial en el desarrollo de lesiones precancerosas al alterar la función de genes supresores de tumores o genes que regulan el crecimiento celular. Estas mutaciones pueden predisponer a las células a la transformación maligna, aumentando así el riesgo de cáncer.⁵

El cáncer se origina a través de dos principales alteraciones: cambios genéticos y epigenéticos. Las alteraciones genéticas, combinadas con eventos epigenéticos como la

hipermetilación del promotor, afectan a los genes supresores de tumores, lo que resulta en la pérdida de su función. Asokan et al.⁶, observaron en su estudio que la hipermetilación de estos genes está vinculada con diversos tipos de cáncer, en el caso de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral, esta se ha visto asociada a los genes supresores de tumores p16 y E-cadherina.⁷

El oncogén p16 es una proteína supresora de tumores que actúa como inhibidor de las quinasas dependientes de ciclinas y es fundamental en la regulación del ciclo celular, inactiva las quinasas dependientes de ciclinas que fosforilan al retinoblastoma ; por lo tanto, p16 puede retardar el ciclo celular. A su vez, el estado de fosforilación de Rb influye en la expresión de p16.⁸

Dada su función en la regulación del ciclo celular, investigar la expresión génica en lesiones con potencial para la malignización, como la leucoplasia verrucosa oral, es crucial para comprender los mecanismos moleculares subyacentes a la carcinogénesis y para identificar posibles biomarcadores de riesgo de cáncer.⁹ Esto puede ayudar en la detección temprana, el pronóstico y el desarrollo de terapias dirigidas, mejorando así la prevención y el tratamiento del cáncer. Además, proporciona información sobre la progresión de la enfermedad y puede ayudar a personalizar los enfoques terapéuticos para cada paciente.¹⁰

2. Planteamiento del problema

La leucoplasia verrugosa proliferativa oral fue inicialmente identificada y descrita por Hansen et al.², en 1985. Se caracterizaba por su origen desconocido y su potencial para evolucionar hacia carcinoma de células escamosas en el sitio de desarrollo. La LVPO se manifiesta como una hiperqueratosis inicial y luego se extiende a múltiples áreas de la cavidad oral y faringe, mostrando un crecimiento gradual y persistente. Con el tiempo, estas lesiones pueden volverse de aspecto verrucoso, exofítico, ulcerado y resistentes al tratamiento, con alta tasa de recurrencia. Esta condición se observa con mayor frecuencia en mujeres de entre 50 y 70 años, con una relación de 4:1 respecto a los hombres.¹¹

Aunque se han realizado numerosos estudios, la etiología de la leucoplasia verrugosa proliferativa oral (LVPO) ha sido controversial. Se han sugerido diversos factores de riesgo como el tabaquismo y la infección por *Candida* sp., pero su influencia no está clara. Por ejemplo, Zakrewska et al.¹², observaron que 7 de 10 casos de LVP estaban relacionados con el tabaquismo, mientras que Silverman et al.⁴, informaron que el 69% de los pacientes no eran fumadores.

Dada las diversas hipótesis sobre el origen de esta patología la investigación genómica resulta de vital importancia, siendo acá donde surge el supresor tumoral p16INK4A (p16), que es miembro de la clase INK4 de inhibidores del ciclo celular, cuya hipermetilación es frecuente en lesiones potencialmente malignas y en las cuales el promotor de p16 hipermetilado tienden a transformarse en cánceres orales.^{13, 14}

Hasta la fecha no existen investigaciones en nuestro país con respecto a esta patología, y debido a lo complejo de la misma tanto para su diagnóstico exacto como para el tratamiento, la identificación genómica en este tipo de lesiones potencialmente malignas es crucial en odontología y en patología oral para comprender mejor la progresión hacia cáncer oral. Esto

ayuda a detectar marcadores de riesgo, permitiendo detección y facilitando un tratamiento personalizado y más efectivo, mejorando así el pronóstico del paciente.^{15,16}

Por todo lo anteriormente mencionados surge esta investigación anterior mencionado la razón por la que surge esta investigación, permitiendo realizar un aporte significativo, de información relevante y actualizada a los profesionales y estudiantes en formación en el campo de la odontología, para comprender la etiología de la leucoplasia verrucosa oral, sus factores de riesgo, progresión al cáncer oral y desarrollo de biomarcadores para mejorar el diagnóstico y tratamiento precoz, impactando positivamente la salud oral y la calidad de vida de los pacientes.

2.1 Preguntas de investigación

1. ¿Cuál es la asociación entre la expresión del oncogen p16 y la progresión de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral a carcinoma oral?
2. ¿Cuál es la correlación entre la expresión del oncogen p16 y aspecto clínico como el tamaño y la localización de las lesiones de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral?
3. ¿Cuál es la utilidad de la expresión del oncogen p16 como marcador pronóstico para predecir el riesgo de transformación maligna en pacientes con leucoplasia verrucosa proliferativa oral?
4. ¿Cuál es la viabilidad de la detección de la expresión del oncogen p16 como una herramienta de diagnóstico temprano y su asociación con factores de riesgo como el VPH en la población estudiada ?

3. Objetivos del estudio

3.1 Objetivo general

Determinar la expresión del oncogen p16 en la leucoplasia verrucosa proliferativa oral de una población en República Dominicana.

3.2 Objetivos específicos

1. Evaluar la asociación entre la expresión del oncogen p16 y la progresión de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral a carcinoma oral.
2. Identificar posibles correlaciones entre la expresión del oncogen p16 y factores clínicos, como el tamaño y la localización de las lesiones de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral.
3. Analizar la utilidad de la expresión del oncogen p16 como marcador pronóstico para predecir el riesgo de transformación maligna en pacientes con leucoplasia verrucosa proliferativa oral.
4. Conocer la viabilidad de la detección de la expresión del oncogen p16 como una herramienta de diagnóstico temprano y su asociación con factores de riesgo como VPH en población seleccionada.

4. Marco Teórico

4.1 Antecedentes Históricos

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define como lesión precancerosa, aquel tejido morfológicamente alterado en el que el cáncer puede aparecer más fácilmente que en el tejido equivalente de apariencia normal, y como condición o estado precanceroso, aquel estado generalizado del organismo asociado con un incremento significativo del riesgo de desarrollar cáncer. Considerando la leucoplasia como una lesión precancerosa.¹⁷

En un seminario de la OMS en el Reino Unido en 2005, se revisó la terminología, la definición y la clasificación de las lesiones orales con tendencia a la transformación maligna. Se determinó que el término "potencialmente maligno" era más adecuado que el término "pre maligno", "precursor" o "precanceroso".¹⁸

La OMS del 2014 al 2017 dividió las leucoplasias orales en dos categorías principales: homogéneas y no homogéneas en 2014. Las leucoplasias no homogéneas tienen características distintivas, como texturas irregulares o áreas elevadas, mientras que las leucoplasias homogéneas tienen una apariencia uniforme y plana. La leucoplasia verrucosa proliferativa oral pertenece a esta última categoría y se caracteriza por la presencia de parches blancos o grises con aspecto verrugoso o papilar. Esta nueva clasificación ayudó a clasificar las lesiones precancerosas en la cavidad oral de manera más precisa, lo que permitió una mejor comprensión y tratamiento clínico de la leucoplasia verrucosa proliferativa y otras variantes de leucoplasia.¹⁹

La OMS presentó una clasificación revisada en 2022 que sería una versión definitiva que abordaría una variedad de trastornos orales, incluidos aquellos con el potencial de transformación maligna. En esta nueva clasificación se incluyó el término "desórdenes potencialmente malignos", que se refiere a enfermedades que tienen un alto riesgo de

desarrollar un cáncer oral. Se incluyó la leucoplasia verrucosa proliferativa oral como uno de los desórdenes de atención prioritaria en esta categoría recién establecida. Esta decisión refleja el reconocimiento de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral como una lesión con características específicas que la hacen susceptible a una transformación maligna, lo que significa que, en comparación con otras formas de leucoplasia, tiene un mayor riesgo de desarrollar cáncer oral invasivo.²⁰

Se pensaba que era una variante de la leucoplasia oral común cuando se describió por primera vez, sin embargo, con el tiempo se descubrieron diferencias significativas en su patología, comportamiento clínico y pronóstico, lo que llevó a su clasificación como una entidad clínica separada. Para obtener una mejor comprensión de la naturaleza y el comportamiento de la LVPO, se llevarán a cabo numerosos estudios clínicos e histopatológicos a lo largo de las décadas siguientes. En comparación con otras formas de leucoplasia oral, esta lesión tenía una tendencia a la recurrencia después de la extirpación quirúrgica y un mayor riesgo de progresión a carcinoma de células escamosas.²¹

El oncogen p16, también conocido como inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 2A, es una proteína que regula el ciclo celular y actúa como un supresor tumoral al detener la proliferación celular. En las últimas décadas, se ha estudiado su papel en la patogénesis de la LVP y otros trastornos orales potenciales. Aunque la LVPO fue descrita por primera vez hace más de una década, su relación con el oncogen p16 se ha estudiado más recientemente con la llegada de la biología molecular y la genómica. Según los estudios, la expresión aberrante de p16 está presente en una proporción significativa de lesiones de LVPO y se considera un marcador útil para identificar lesiones con un mayor riesgo de progresión a cáncer.^{22, 23}

4.2 Desórdenes orales potencialmente malignos y su clasificación

Las neoplasias malignas (NM) pueden afectar la cavidad oral, como cualquier otra parte de nuestro cuerpo. En algunos casos, las NM pueden comenzar con Desórdenes Orales Potencialmente Malignos (DOPM).²⁴

Los DOPM son alteraciones en el tejido oral que pueden tener características de tumores malignos y pueden transformarse en cualquier momento. El consumo de tabaco, alcohol, betel quid y la exposición a la radiación solar son factores externos perjudiciales para la salud oral que han aumentado significativamente en el último siglo.²⁵

Este grupo de desórdenes se compone de un conjunto de patologías dentro de las que es pertinente mencionar:^{20, 21}

4.2.1 Eritroplasia

Se define como una placa de color rojo intenso que no se puede caracterizar clínica ni patológicamente como ninguna otra enfermedad definible. La incidencia en la población es estimada entre el 0.2 % y el 0.83%, con una predilección por el género masculino entre los 40 y 60 años. El grado de malignización de una eritroplasia oscila entre el 14 % y el 50 %.²⁶

4.2.2 Eritroleucoplasia

Es una leucoplasia no homogénea que se caracteriza por una placa roja con áreas blancas con una superficie plana y que puede causar ardor o dolor. Estas lesiones son más comunes en los hombres entre la quinta y sexta década de la vida y pueden ocurrir en cualquier parte de la mucosa bucal. Su causa está relacionada con la infección por *Candida albicans* y el consumo de tabaco.¹⁵

4.2.3 Liquen plano

Es una enfermedad inflamatoria crónica que se manifiesta por autoinmunidad y tiene una incidencia del 0.1 % al 2.2 % en la población. La mayoría de las personas que la padecen son mujeres en la tercera y quinta década de la vida, pero también puede ocurrir en jóvenes y niños. Si el liquen plano no recibe tratamiento adecuado, tiene una incidencia de malignización del 2% al 4%.^{13, 18}

4.2.4 Queilitis actínica

Es una inflamación de los labios causada por la radiación ultravioleta, la mala higiene, los traumatismos, el consumo de tabaco o alcohol, reacciones alérgicas, infecciones, cáncer o enfermedades sistémicas. En personas expuestas al aire libre por un largo tiempo, mayormente del género masculino y de mediana edad, así como de tez blanca, el labio inferior es el más predominante. Tiene la capacidad de malignizarse entre el 11 % y el 36 % en un carcinoma de células escamosas y en el 95 % es la causa del cáncer de labio.^{9, 11}

4.2.5 Leucoplasia

La leucoplasia es una lesión blanca en la mucosa de la boca que no puede ser raspada o eliminada. Cualquier parte de la cavidad oral, como el paladar, las encías, las mejillas o la lengua, puede sufrir esta lesión. La leucoplasia puede ser una indicación de irritación crónica de la mucosa oral causada por el tabaquismo, el consumo excesivo de alcohol o la fricción constante, como la causada por los dientes afilados o las prótesis dentales mal ajustadas.²⁷

4.3 Leucoplasia oral homogénea

La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como una placa blanca que se encuentra en la mucosa bucal que no puede ser eliminada mediante raspado y no se considera una enfermedad diagnosticable. Es la lesión potencialmente maligna más común en la

cavidad oral, que ocurre entre el 1,5 % y el 12 % en individuos con predilección por el género masculino y aparece entre la cuarta y sexta década de la vida.²⁷

Figura 1: Leucoplasia oral en la parte lateral de la lengua.



Fuente: Amagasa T, Yamashiro M, Uzawa N. Oral premalignant lesions: from a clinical perspective. *Int J Clin Oncol.* 2011;16(1):5-14.

La leucoplasia puede ser causada por una variedad de factores. Estos incluyen el tabaco con o sin humo, el alcohol, la infección por VPH, la irritación crónica causada por dentaduras protésicas mal adaptadas, la infección por *Candida Albicans*, el virus de EBV y algunos trastornos genéticos. Las lesiones pueden aparecer como placas elevadas, gruesas y firmes con una superficie fisurada, solitarias o múltiples, maculares, asintomáticas, planas, de un color ligeramente blanquecino o translúcidas. La leucoplasia puede aparecer en cualquier parte de la mucosa bucal, pero es más común en la mucosa yugal, las comisuras labiales, la

lengua y la encía. Con menor frecuencia, se encuentra en el piso de la boca, el paladar, el reborde alveolar o el labio inferior.²⁸

La leucoplasia se clasifica clínicamente en dos categorías: homogénea y no homogénea. La leucoplasia homogénea se presenta como una lesión blanca uniforme y delgada, con una superficie lisa, aunque también puede verse corrugada o con surcos; esta es la forma más común.

Figura 2: Leucoplasia oral homogénea.



Fuente: Petersen P. Oral cancer prevention and control--the approach of the World Health Organization. *Oral Oncol.* 2019;45(4):454-60.

4.4 Leucoplasia oral no homogénea

La leucoplasia no homogénea, que incluye eritroleucoplasia nodular y verrugosa, es una lesión blanca con una superficie irregular. La leucoplasia no homogénea es una variante de la leucoplasia oral que se caracteriza por presentar áreas blancas irregulares en la mucosa oral. Estas lesiones pueden tener diferentes texturas, como lisas, rugosas o verrugosas.²⁹

Histopatológicamente, la leucoplasia muestra hiperparaqueratosis (un aumento del espesor de la capa de queratina), acantosis (un aumento del espesor del estrato espinoso) y papilomatosis. Por lo tanto, el engrosamiento de alguna de las capas contribuye al aspecto blanco del epitelio. La leucoplasia generalmente presenta displasia leve o moderada.³⁰

Figura 3: Leucoplasia oral no homogénea en mucosa gingival.



Fuente: Partridge M, Pateromichelakis S, Phillips E, Emilion G, Langdon J. Profiling clonality and progression in multiple premalignant and malignant oral lesions identifies a subgroup of cases with a distinct presentation of squamous cell carcinoma. Clin Cancer Res. 2021;7(7):1860-6.

4.5 Leucoplasia verrucosa proliferativa oral

La leucoplasia verrucosa proliferativa oral (LVPO) es un tipo muy agresivo y raro de leucoplasia oral no homogénea (LONH) con alta morbilidad.. Es una variante de la leucoplasia oral que se distingue por la presencia de lesiones blancas y verrugosas en la mucosa oral. En comparación con otras formas de leucoplasia, estas lesiones pueden

presentar un aspecto áspero y rugoso, similar a las verrugas, suelen ser más evidentes, y tiene una prevalencia en la mucosa de las encías.³¹

Figura 4: Leucoplasia verrucosa proliferativa oral en cara ventral de la lengua.



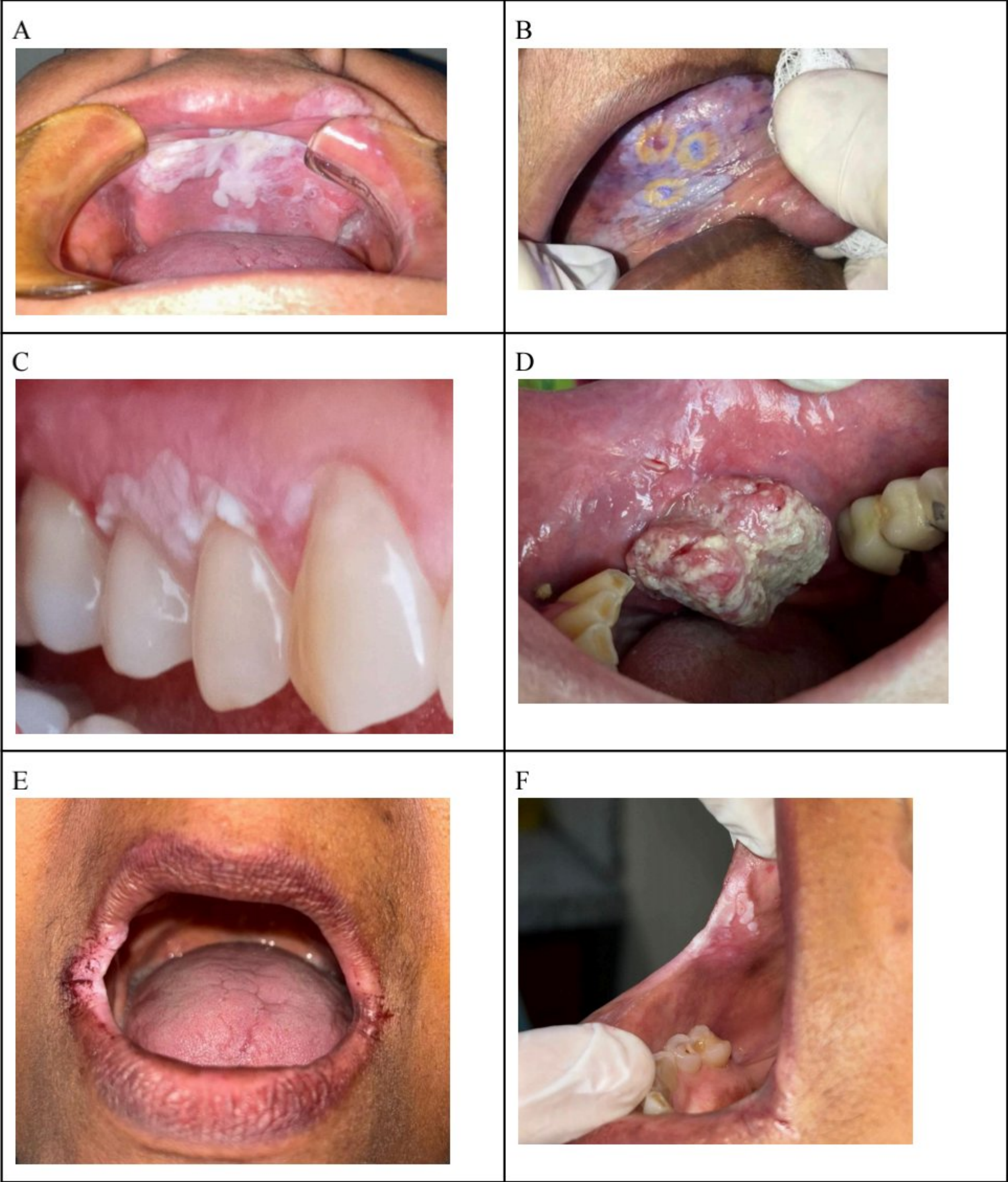
Fuente: Bouquot J. Common oral lesions found during a mass screening examination. *J Am Dent Assoc.* 2019;112(1):50-7.

Inicialmente se desarrolla como una placa blanca, pero luego se transforma en lesiones multifocales de crecimiento lento que son resistentes a todas las formas de tratamiento, incluida la cirugía, con una alta tasa de recurrencia y una tendencia hacia la transformación a cavidad oral.³²

La LVPO exhibe cambios histológicos similares a los de otras formas de leucoplasia, como hiperqueratosis, paraqueratosis y displasia epitelial. Sin embargo, la proliferación verrucosa del epitelio es la característica distintiva de esta variante, que puede ser más evidente en la superficie de la lesión. Actualmente, la Organización Mundial de la Salud

(OMS) en el 2005 describió la LVPO como "una forma clínica rara pero distintiva de lesiones precursoras orales de alto riesgo".³³

Tabla 1: Presentación clínica de Leucoplasia verrucosa proliferativa oral.



Fuente: Propia de la investigación

4.6 Diagnósticos diferenciales clínicos de la LVPO

4.6.1 Candidiasis oral

Una infección fúngica que puede presentar placas blancas en la mucosa oral. A diferencia de la LVPO, las lesiones por candidiasis suelen ser raspables y pueden estar asociadas con la presencia de *candida albicans*.⁵

4.6.2 Papiloma oral

Es un tumor benigno epitelial que puede tener una apariencia verrugosa similar a la LVPO. Se diferencia mediante biopsia y análisis histopatológico, ya que el papiloma es benigno mientras que la LVPO es una condición potencialmente malignizable.¹⁰

4.6.3 Neoplasias epiteliales malignas

Incluyen carcinomas de células escamosas y otros tumores malignos que pueden comenzar con una lesión blanca en la mucosa oral. Es fundamental descartar estas condiciones mediante biopsia, ya que requieren un manejo y tratamiento diferente y más agresivo que la LVPO.¹⁴

4.6.4 Leucoplasia verrucosa oral

Similar en apariencia a la LVPO, pero generalmente menos proliferativa y con menos prominencia de papilas. Es importante diferenciarlas mediante características clínicas y hallazgos histopatológicos.¹³

4.6.5 Liquen plano oral

Una enfermedad inflamatoria crónica que afecta la mucosa oral y puede presentar áreas blancas (leucoplasia) acompañadas de líneas finas llamadas líneas de Wickham. El liquen plano oral puede ser erosivo en algunos casos, lo cual lo diferencia de la LVPO.³

4.6.6 Leucoplasia oral común

Otra variante de la leucoplasia oral que puede presentar áreas blancas en la mucosa oral. A diferencia de la LVPO, no muestra la misma apariencia verrugosa y proliferativa.²³

4.7 Diagnósticos diferenciales histopatológicos de la LVPO

4.7.1 Liquen plano

Es una enfermedad inflamatoria crónica que puede afectar la mucosa oral. Histológicamente, se observan bandas de células basales hiperqueratósicas, queratinocitos apoptóticos (células de Civatte) y un infiltrado inflamatorio linfocitario.⁹

4.7.2 Leucoplasia idiopática

Similar a la LVPO en apariencia clínica, pero sin el componente verrucoso prominente. Histológicamente, se observa hiperqueratosis y acantosis con o sin displasia.⁵

4.7.3 Candidiasis crónica

La candidiasis oral crónica puede presentar lesiones blanquecinas que pueden ser confundidas con LVPO. Histológicamente, se observan hifas de *Candida* en la capa superficial de la epidermis, junto con un infiltrado inflamatorio crónico.¹²

4.7.4 Displasia oral

Es una condición potencialmente maligna que puede tener apariencia clínica similar a la LVPO. Histológicamente, muestra cambios celulares anormales en la capa epitelial, pero sin llegar a ser un carcinoma in situ.¹⁷

4.7.5 Papiloma oral

Aunque es una lesión benigna, puede tener aspecto verrugoso similar a la LVPO. Histológicamente, muestra proliferación de papilas epiteliales con núcleos basales bien definidos.²⁶

4.7.6 Carcinoma verrucoso oral

Es un tumor epitelial maligno y puede presentar áreas similares a la LVPO en etapas iniciales. Histológicamente, muestra invasión de células epiteliales con atipia nuclear y patrón de crecimiento desorganizado.¹⁸

4.8 Diagnóstico e histopatología de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral

Las características distintivas de esta lesión se pueden observar en la biopsia de la mucosa afectada desde el punto de vista histopatológico. Las siguientes son algunas características histológicas comunes de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral:^{34, 35}

4.8.1 Hiperqueratosis, paraqueratosis y ortoqueratosis

Un aumento en la producción de queratina hace que la capa más externa de la mucosa oral se engrose. Esta hiperqueratosis puede ser parcial o completa y contribuye a la formación de la placa blanca característica clínicamente de las lesiones.³⁶

4.8.2 Acantosis

El epitelio que recubre la mucosa oral tiene una proliferación de células a nivel de la capa espinosa y basal, lo que hace que la cantidad de células sea mayor. Los cambios displásicos en las células epiteliales podrían ser la causa de esta acantosis.³⁷

4.8.3 Papilomatosis

Es el crecimiento excesivo de las papilas epiteliales hacia la superficie de la mucosa oral. Estas papilas pueden ser ramificadas o digitiformes, lo que contribuye al aspecto verrugoso de las lesiones.³⁸

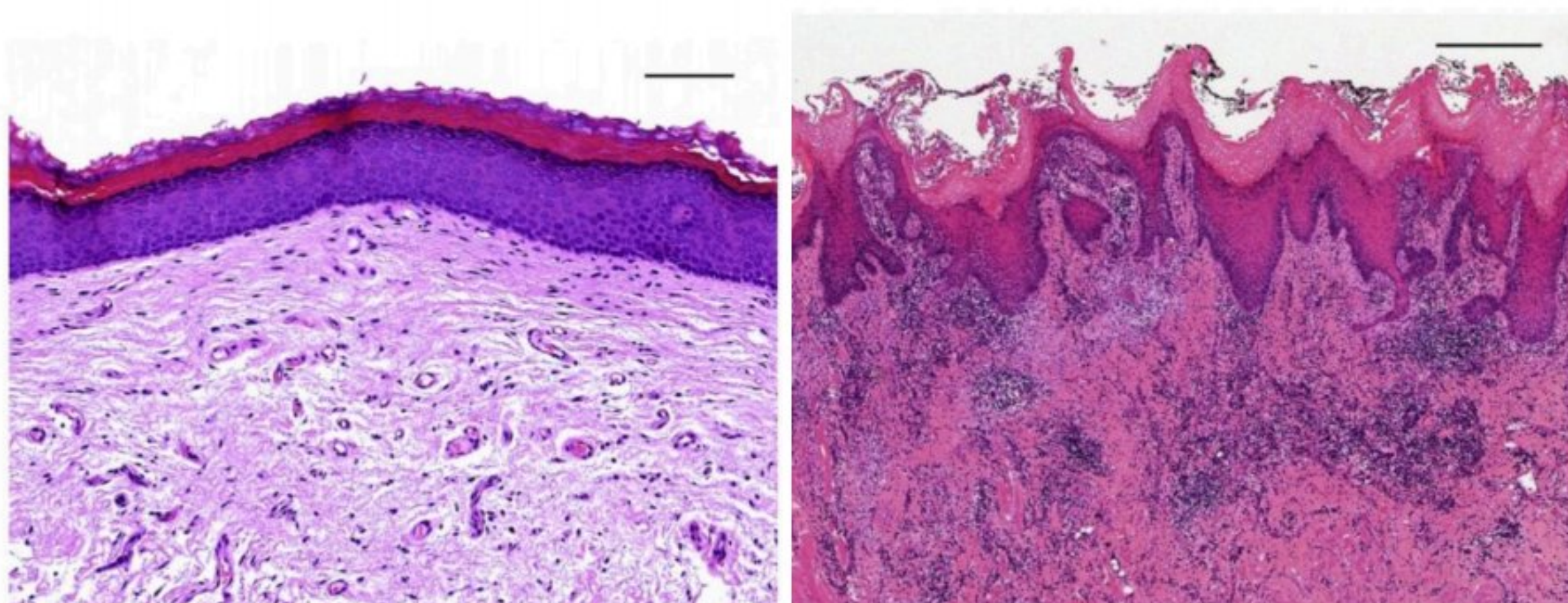
4.8.4 Displasia epitelial

En algunos casos, la leucoplasia verrucosa proliferativa oral puede estar relacionada con cambios displásicos en las células epiteliales. Estos cambios en la morfología y disposición de las células en la mucosa afectada se conocen como displasia epitelial. La displasia epitelial varía en severidad y es un factor de riesgo para la progresión a cáncer oral.³⁹

4.8.5 Inflamación crónica

Es común que haya un infiltrado inflamatorio crónico en el tejido conectivo subyacente. La irritación persistente de la mucosa oral causada por el roce o el trauma, así como la respuesta inmunitaria a la proliferación celular anormal, pueden ser las causas de esta inflamación.⁴⁰

Figura 5: Histología de leucoplasia verrucosa proliferativa oral.



Fuente: Barret A. The histopathology of proliferative verrucous leukoplakia. Diagnostic Histopathology. 2021;27(5):202-207

El diagnóstico de LVPO es clínico patológico se basa en datos clínicos como una evolución progresiva de leucoplasia homogénea que se extiende a diferentes lugares con alteraciones en su apariencia. La histopatología puede ayudar a diferenciar el estándar de la enfermedad.⁴¹

Bagan et al.¹³, propusieron un conjunto de criterios de diagnóstico para facilitar la identificación temprana de casos de LVPO. Se incluyen cinco criterios mayores y cuatro criterios menores en la propuesta:

Los criterios mayores:²⁷

-La lesión de leucoplasia con más de dos sitios orales diferentes es más común en las apófisis gingivales, alveolares y del paladar.

-La presencia de un área verrucosa.

-Las lesiones se propagan o engrosan mientras la enfermedad avanza.

-Recurrencia en un área que ya ha sido tratada.

-Desde una simple hiperqueratosis epitelial hasta una hiperplasia verrugosa, un carcinoma verrugoso o un carcinoma oral de células escamosas, se pueden encontrar.

Criterios menores:⁴³

-Lesión de leucoplasia oral que, sumando todas las áreas afectadas, ocupa al menos 3 cm.

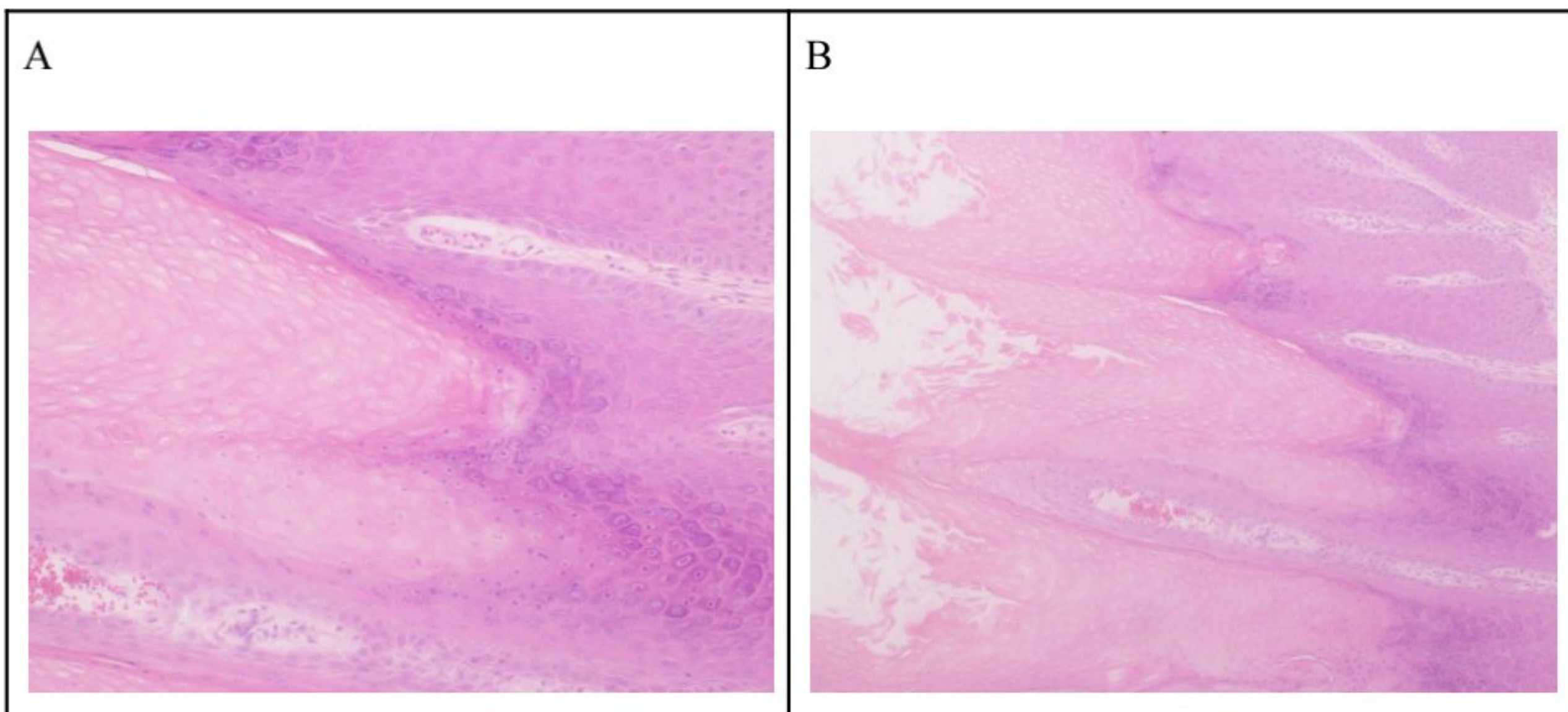
-La paciente es una mujer.

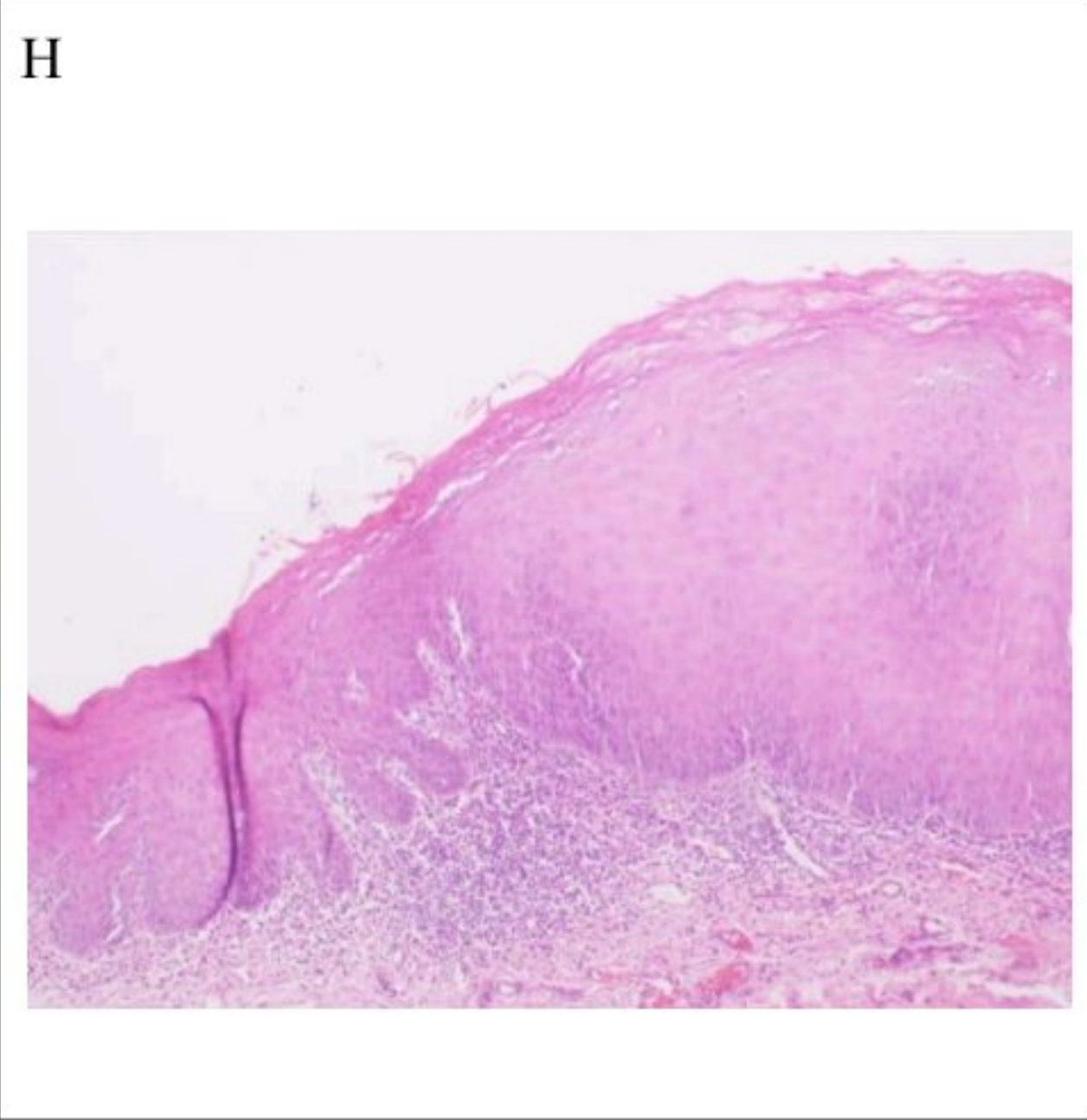
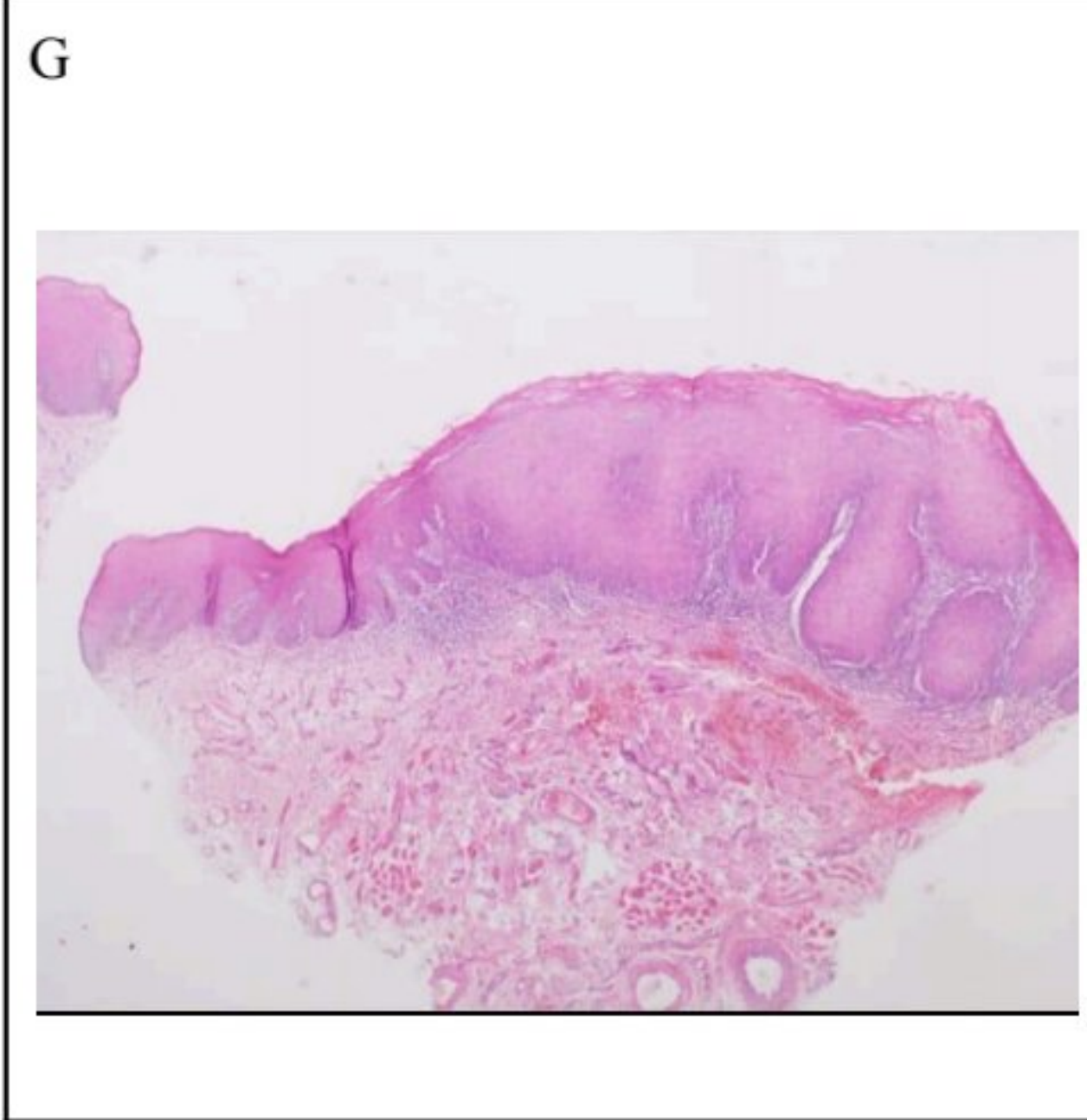
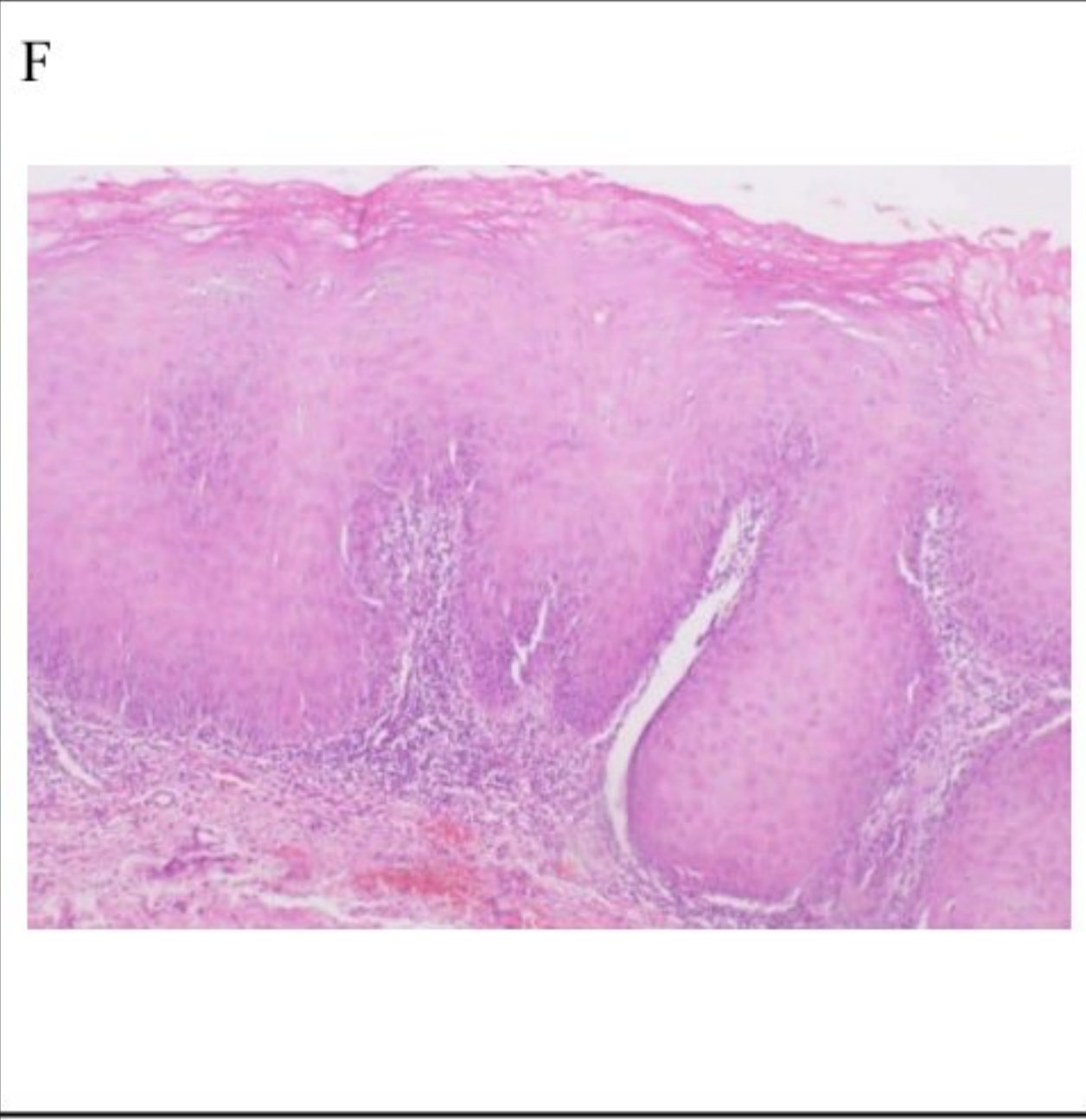
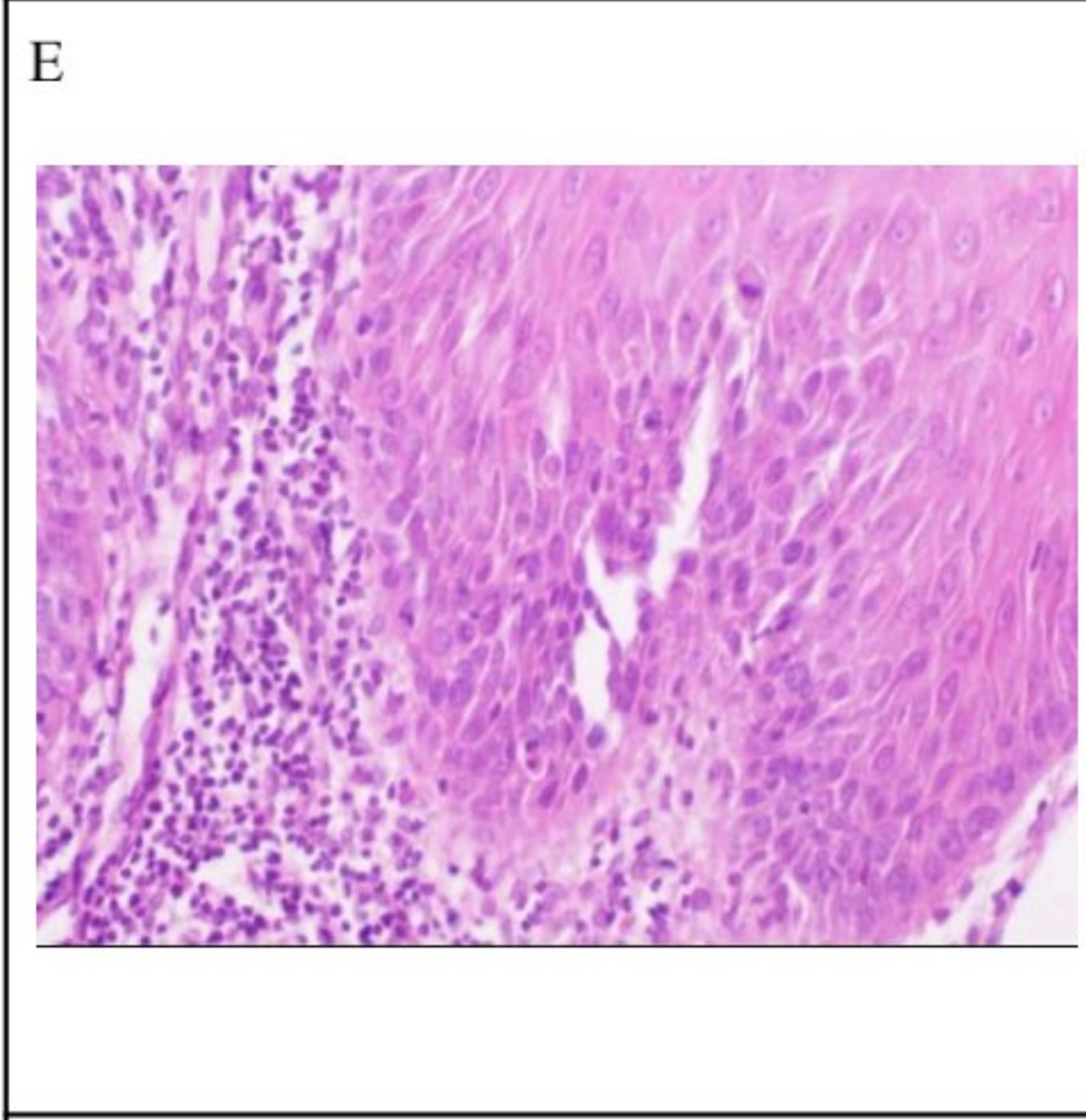
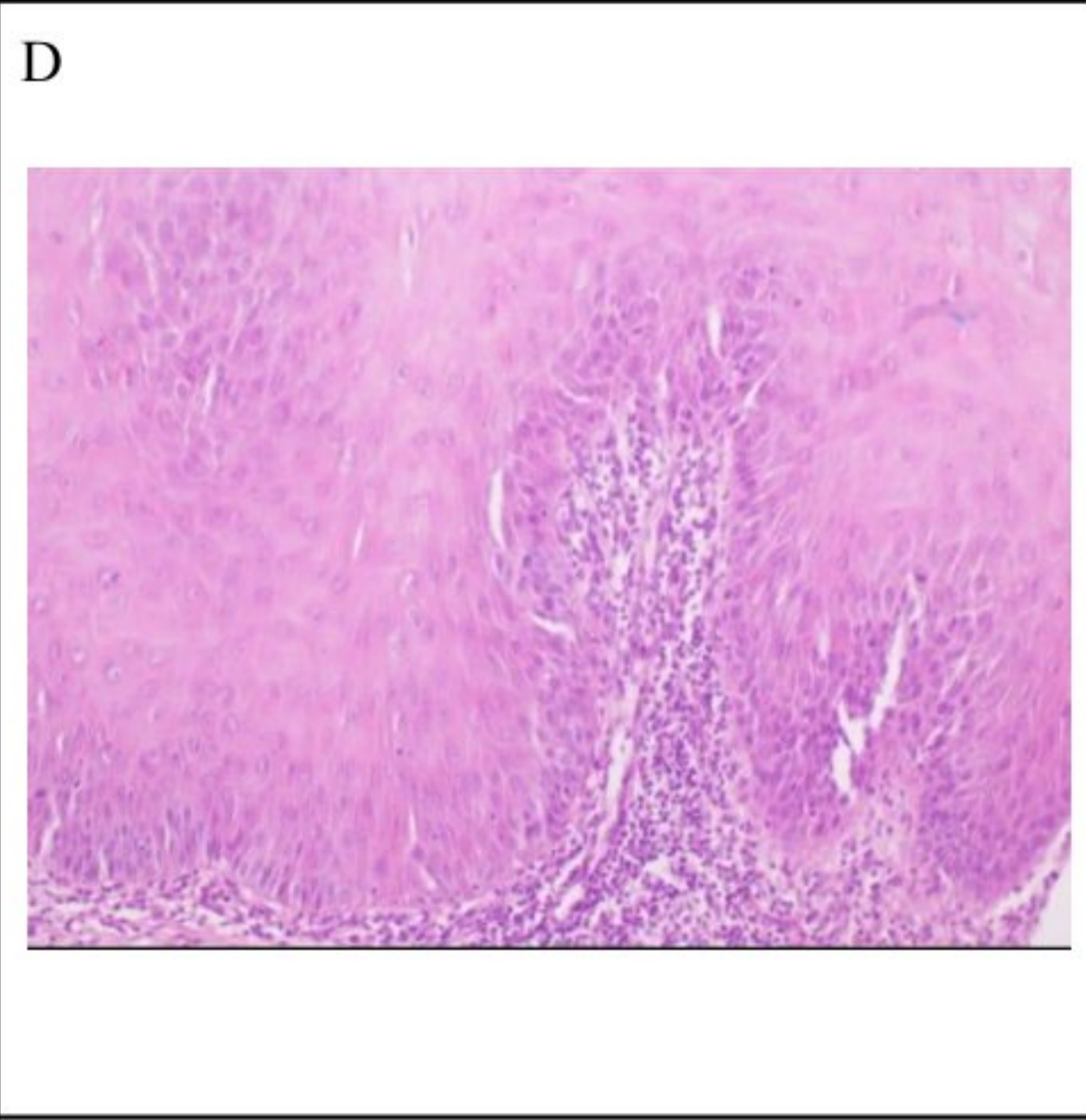
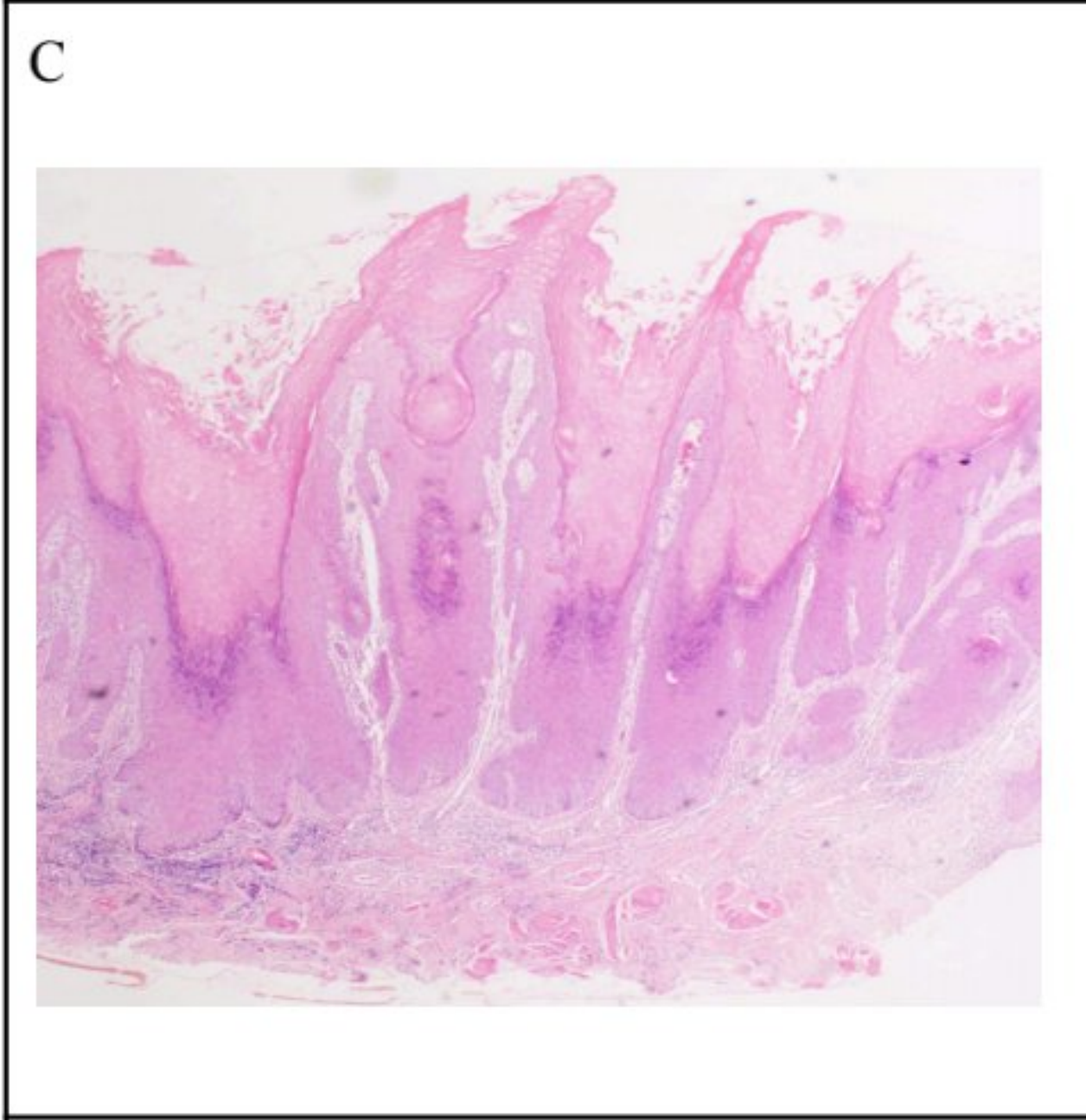
-El paciente no fuma.

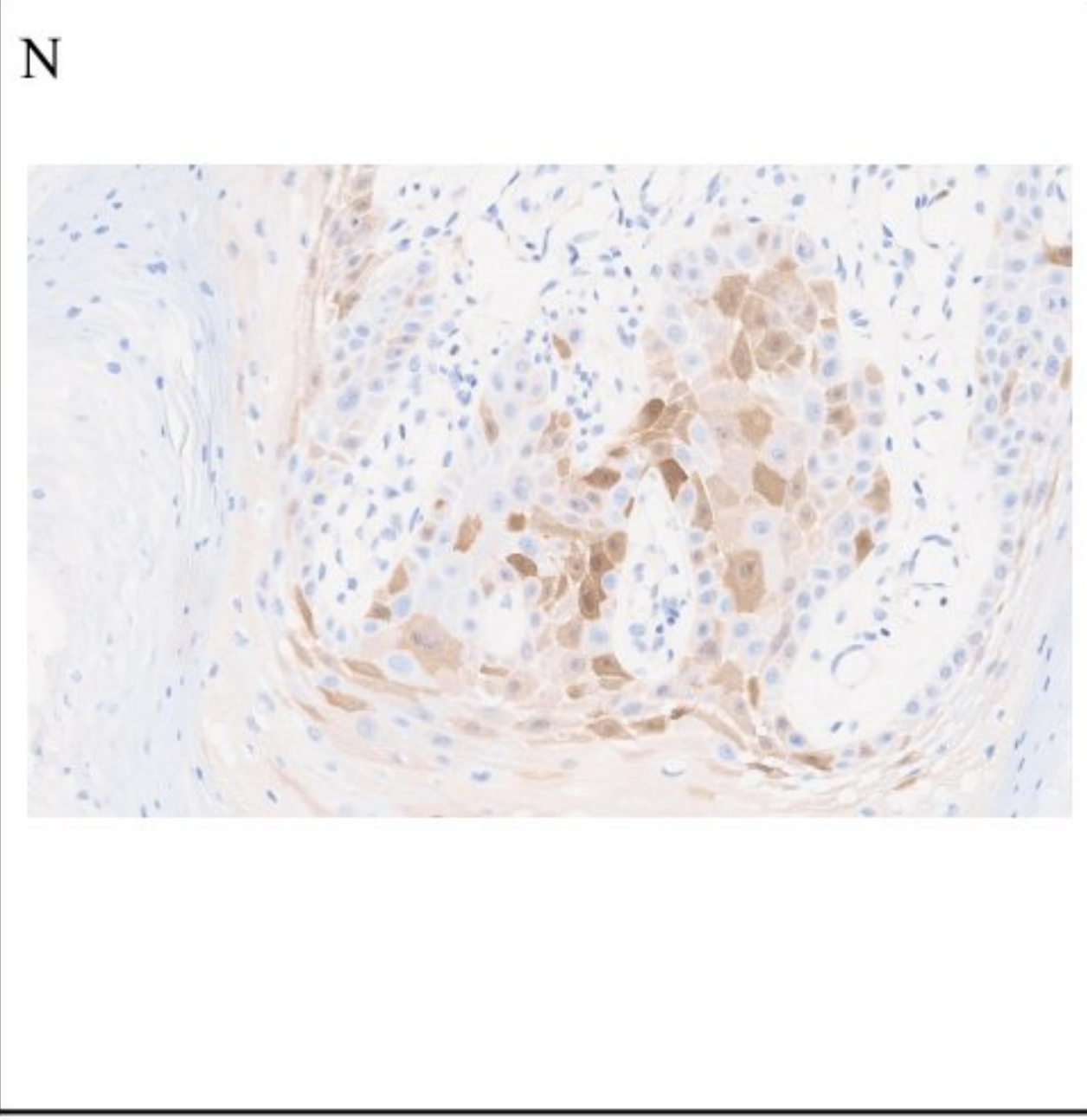
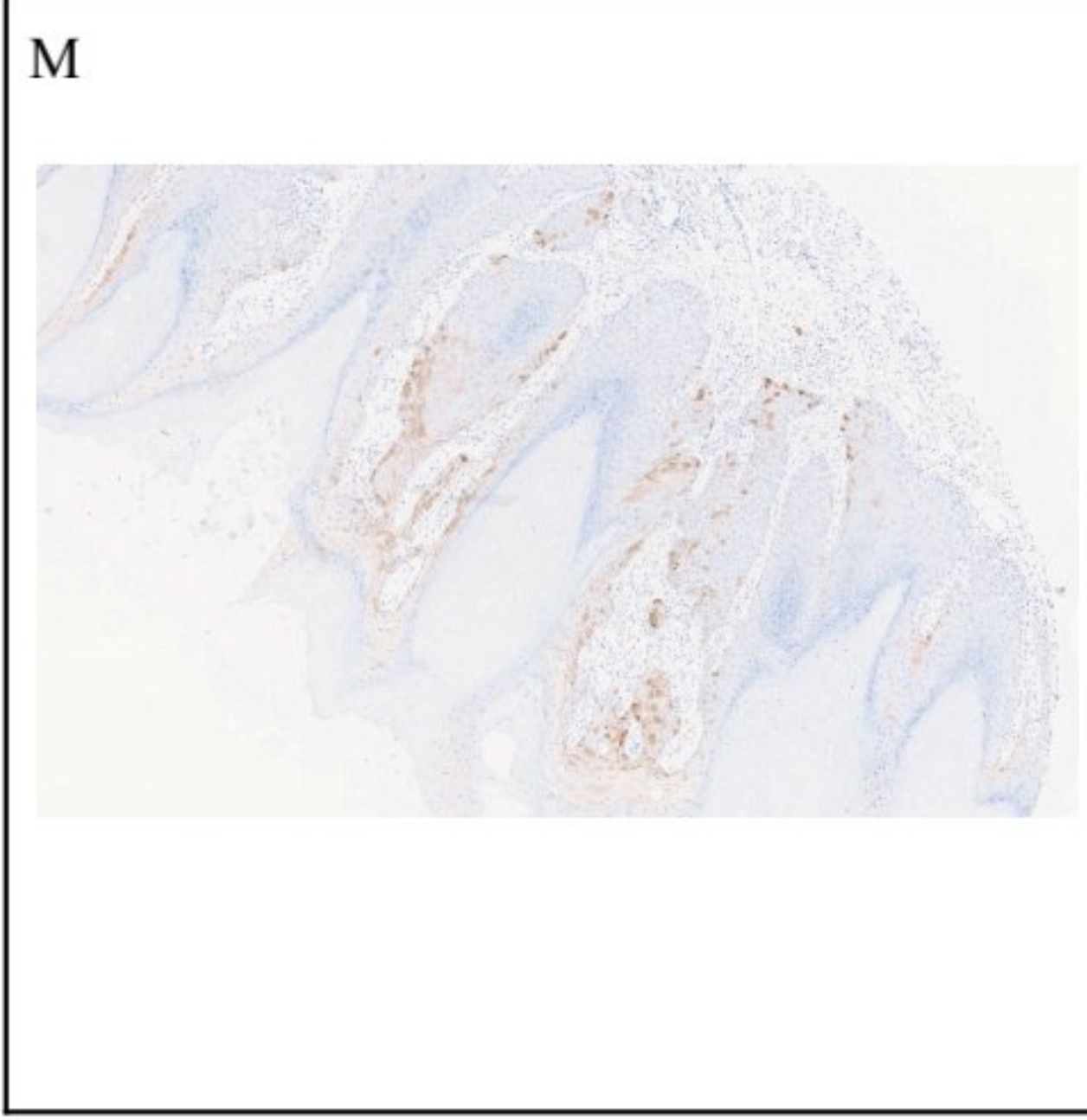
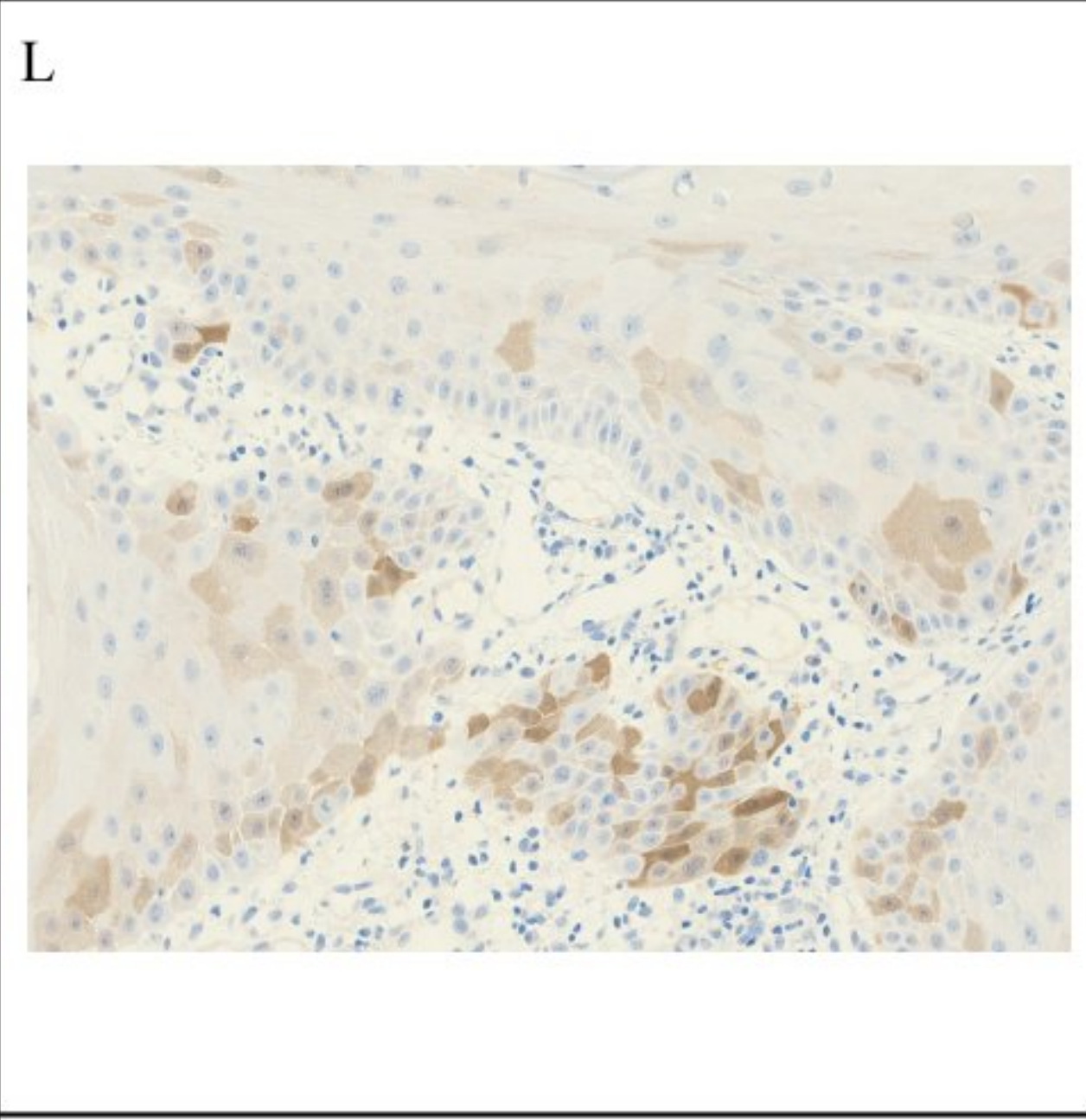
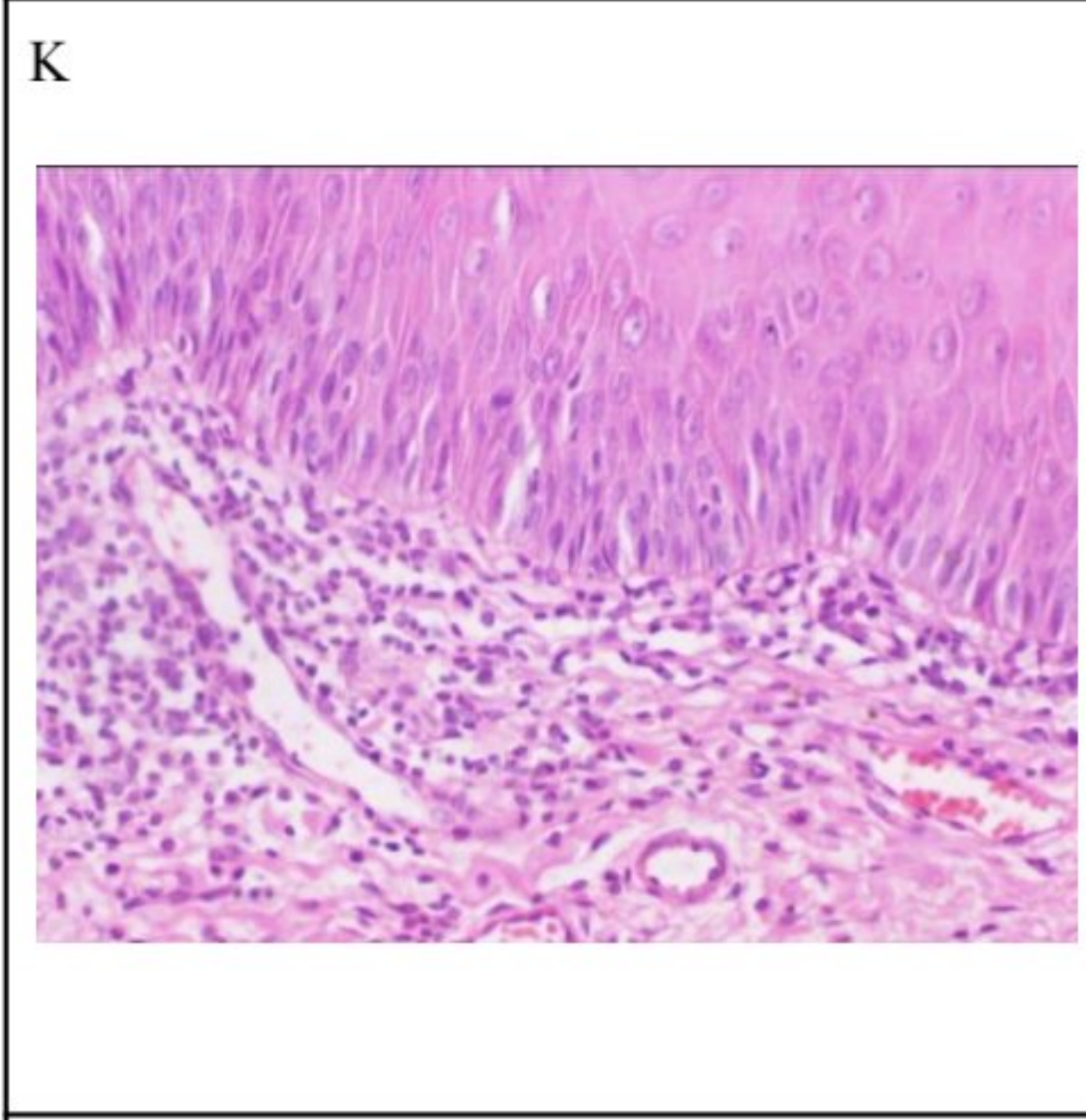
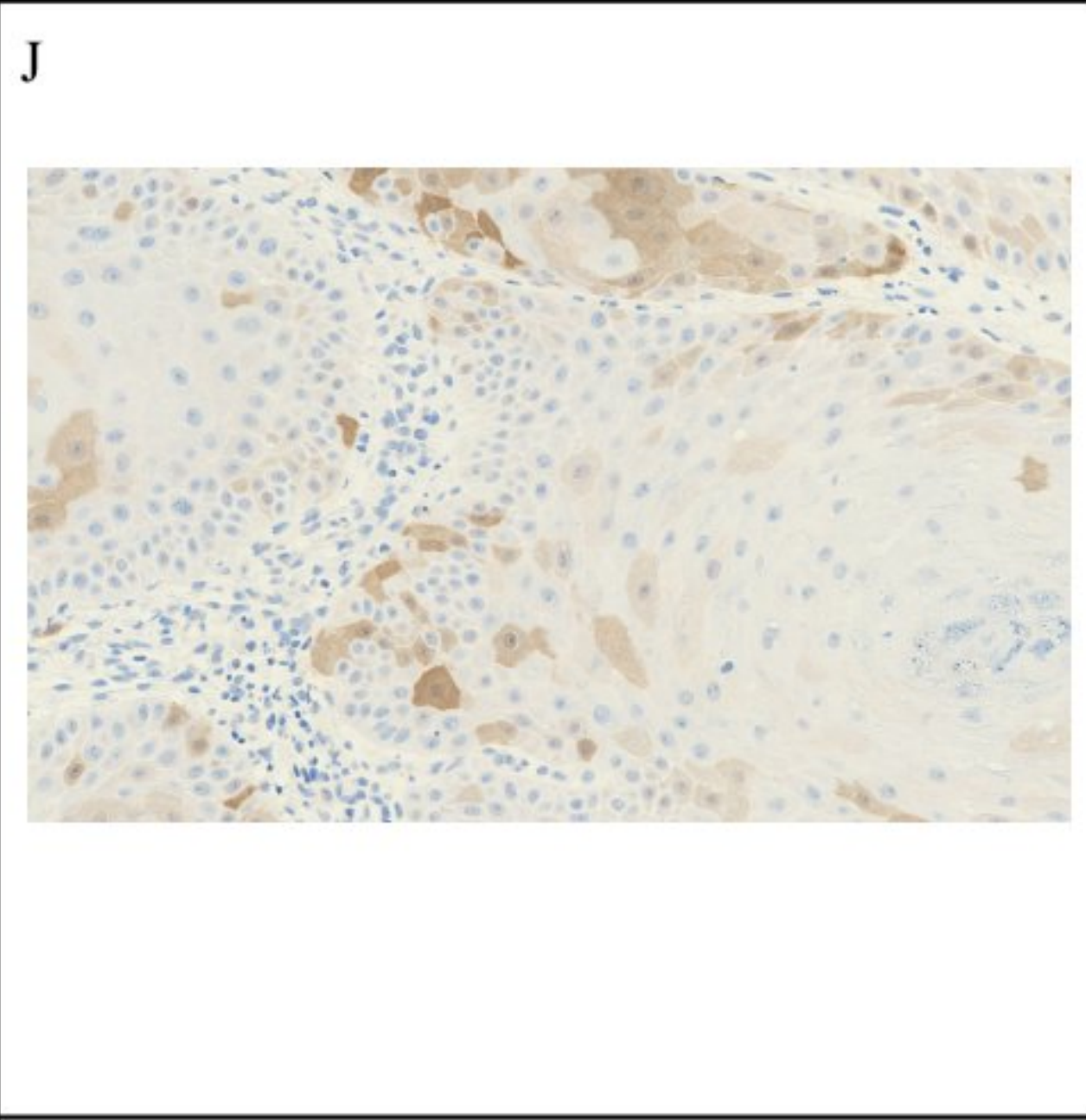
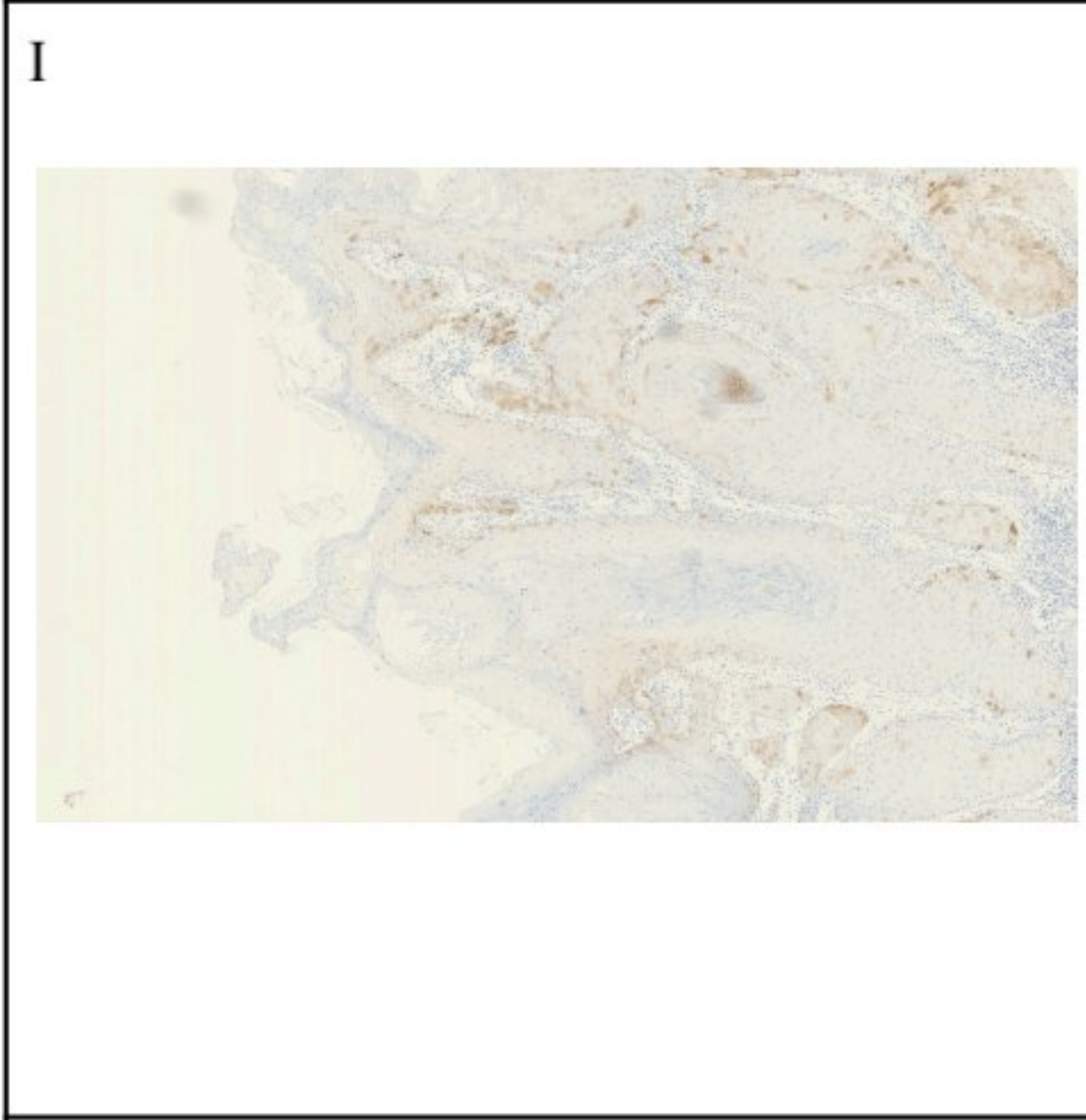
-Una enfermedad que persiste por más de 5 años.

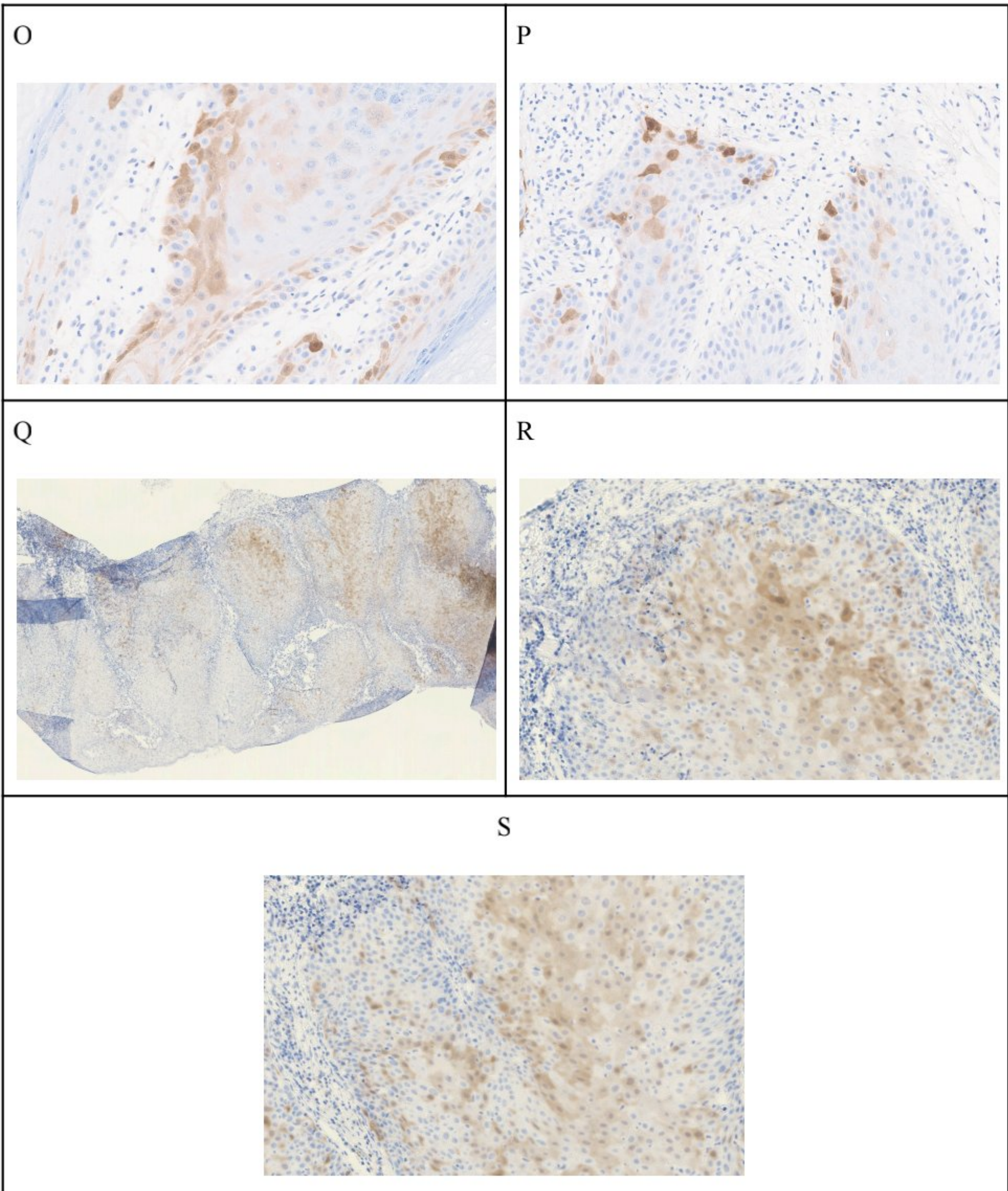
Se sugirió una de las dos combinaciones de criterios mencionadas anteriormente: tres criterios mayores o dos criterios mayores más dos criterios menores para realizar el diagnóstico de LVPO.

Tabla 2: Aspecto histopatológico de LVPO









Fuente: Propia de la investigación

4.9 Etiología y factores de riesgo de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral

Diversas conductas de riesgo, como el consumo de tabaco, alcohol y nuez de betel, están relacionadas con lesiones potencialmente malignas como la LVPO. La infección por el virus del papiloma humano también se ha considerado como un factor de riesgo.⁴⁴

El virus del papiloma humano es un virus de ADN circular pequeño que infecta las células epiteliales de la piel o la mucosa. La infección oral por VPH con frecuencia ocurre sin signos o síntomas iniciales, lo que hace que las personas no se den cuenta de la infección durante mucho tiempo. Mientras tanto, algunas personas pueden desarrollar papilomas benignos y lesiones potencialmente malignas que pueden causar cáncer. La prevalencia de VPH ha aumentado en los últimos diez años, lo que ha aumentado la progresión de LVPO a carcinoma de células escamosas.⁴⁵

Figura 6: Lesiones verrugosas linguales por virus del papiloma humano.



Fuente: Golusinski P. Risk Factors for Oral Infection with Human Papillomavirus. Recent Results Cancer Res. 2017;2(6):73-85.

Debido a lo anterior, la investigación se ha centrado en los VPH y su papel en la aparición y malignización de LPMs en las últimas décadas. La presencia de VPH en LVPO puede

variar de 0 a 85% de los casos, por lo que solo su presencia no implica que la infección sea un factor etiológico de las lesiones.⁴⁶

En 2017, Zendeli et al.³⁹, realizaron un estudio de casos y controles que comparó a un grupo de 40 pacientes diagnosticados con LVPO con un grupo control de 40 pacientes seleccionados aleatoriamente que no presentaban cambios visibles en la mucosa oral. El estudio encontró una conexión entre los tipos de virus del papiloma humano de alto riesgo (VPH-16 y VPH-18) y los trastornos premalignos orales.

Por otro lado, Pierangeli et al. descubrieron en 2016 la presencia de VPH en la cavidad oral mediante un estudio de casos y controles. El 53,2% de los casos eran VPH positivos en comparación con el 34,5% de los controles. Para ambos grupos, el genotipo predominante fue VPH 16. Los pacientes diagnosticados con LVPO tenían una mayor tasa de infección por VPH (75%), seguido de papilomatosis (58,3%), otros tipos de lesiones en la cavidad oral (41,2%) y leucoplasia (33,3%). La investigación encontró que la presencia de VPH en las lesiones de cavidad oral era estadísticamente significativa ($p=0,042$), y que había un porcentaje mayor de genotipos de alto riesgo.⁴⁷

Además, un estudio de hibridación in situ encontró una correlación entre el VPH, la leucoplasia oral y la progresión de trastornos precancerosos orales (34). Otro estudio examinó el ADN de los VPH 6, 11, 16 y 18 en 72 muestras de leucoplasia oral. Se descubrió que el 22% de las muestras de LVP son VPH positivos.⁴⁸

Uno de los factores de riesgo mencionados que puede aumentar la probabilidad de desarrollar LVP en la cavidad oral es el género. Se ha descrito que los hombres son dos veces más propensos a sufrir estas lesiones que las mujeres.⁴⁹

Una descripción comparativa con la literatura mundial frecuente en el género femenino, pero esta información puede variar según el país en el que se realiza el estudio. En naciones como Suecia, la proporción de ambos géneros es similar, en contraste con Hungría, donde la proporción entre hombres y mujeres es de 3:1. Sin embargo, en el caso de las mujeres, las lesiones tienen una mayor tendencia a transformarse negativamente. En California, la razón fue similar para ambos géneros y también se observó una mayor tendencia a la malignización en las mujeres.^{50, 51}

Asimismo, se describieron otros factores de riesgo, como el consumo de tabaco (el riesgo es proporcional a la cantidad de tabaco y el tiempo en que se fumó) y bebidas alcohólicas. Los fumadores tienen LVPO seis veces más que los no fumadores y la eritroplasia oral está más relacionada con estos dos factores, según la literatura.⁵²

Por otro lado, las personas mayores de 55 años tienen más probabilidades de sufrir estas lesiones y desarrollar cáncer. Sin embargo, la edad ha ido variando con el tiempo, presentándose ahora en edades más tempranas debido a los cambios en las prácticas sexuales y las relaciones que esto ha generado con el VPH.⁵³

Figura 7: Carcinoma de células escamosas en cara ventral de la lengua.



Fuente: Garnis C, Chari R, Buys T, Zhang L, Ng R, Rosin M, et al. Genomic imbalances in precancerous tissues signal oral cancer risk. *Molecular cancer J.* 2019;8(1):50-8.

4.10 Genes de supresión tumoral y Oncogenes

Uno de los dos tipos diferentes de alteraciones genéticas relacionadas con el desarrollo de tumores es la activación de oncogenes celulares; el otro es la inactivación de genes supresores de tumores. Los oncogenes causan alteraciones genéticas que aumentan la expresión genética o conducen a una actividad descontrolada de las proteínas codificadas por oncogenes, lo que provoca una proliferación celular anormal. Los genes supresores de tumores impiden la proliferación celular y el desarrollo de tumores y son el lado opuesto del control del crecimiento celular. En muchos tumores, estos genes se pierden o se inactivan, eliminando los reguladores negativos de la proliferación celular y contribuyendo a la proliferación anormal de las células tumorales.^{54, 55}

Los oncogenes son mutaciones de aumento de función de los genes reguladores normales o protooncogenes. Oncogenes, que fueron descubiertos por primera vez en retrovirus que inician una variedad de cáncer de animales y aves, se consideran importantes contribuyentes a la carcinogénesis humana. La mutación de punto, la amplificación o la reorganización alteran los proto-oncogenes. La alteración estructural de los proto-oncogenes conduce a un cambio de expresión cuantitativa o cualitativa del producto proteico correspondiente. Las oncoproteínas alteran las vías de transducción de señales en la superficie de la célula, en el citosol y/o en el núcleo. Los oncogenes, junto con otras oncoproteínas o en ausencia de productos genéticos supresores de tumores, fomentan la proliferación acelerada, desregulan el control del ciclo celular o detienen la apoptosis.⁵⁶

4.11 Oncogen p16 y su relación con la leucoplasia verrucosa proliferativa oral

El gen p16INK4a, también conocido como CDKN2A, es un inhibidor kinasa dependiente de ciclinas que está relacionado con la regulación del ciclo celular y corresponde a un área de pérdida genética común en tumores sólidos. La inactivación de este gen altera la expresión de su proteína, lo que lo convierte en un biomarcador útil para la displasia y el carcinoma de cavidad oral.⁵⁷

La detección inmunohistoquímica de p16INK4a se utiliza como biomarcador de displasia escamosa en cáncer de cérvix, donde la proteína se encuentra frecuentemente sobreexpresada debido a una infección por un genotipo de alto riesgo de VPH. A pesar de esto, existen discrepancias sobre la asociación de la sobreexpresión de p16INK4a con lesiones potencialmente malignas como la leucoplasia verrucosa proliferativa oral.^{58, 59}

El estudio realizado por Bradley et al.⁴³, encontró que la expresión de p16INK4a estaba relacionada con la severidad de la displasia ($p < 0,01$), y que había una tendencia a disminuir la expresión de p16INK4a a medida que aumentaba el grado de displasia ($p = 0,006$). Sin embargo, la tinción de p16INK4a resultó negativa en el 51% de los pacientes, la mayoría de los cuales tenían displasia moderada/severa. En este estudio también no se examinó si había VPH en las lesiones, lo que significa que la expresión de p16INK4a no es un marcador útil para diferenciar una mucosa displásica de una normal.⁶⁰

En 2022, Ghazali et al.⁵⁴, encontraron una correlación entre la sobreexpresión del gen p16INK4A y la infección por VPH en varios pacientes con LPV y carcinoma escamocelular oral. Dentro de los 74 pacientes con leucoplasia, el 18% presentó sobreexpresión de p16INK4a (13 pacientes), pero ninguno de los 13 serotipos de ADN de VPH se detectó mediante RT-PCR. Sin embargo, ninguna de las lesiones con displasia y sin displasia que mostraron positivo para p16INK4a progresó a carcinoma escamocelular oral (CECO), y la

diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,25$). No se encontró ninguna correlación entre el p16INK4a positivo y el género o la historial de tabaquismo de los pacientes en este estudio. Se encontró que el análisis de p16INK4a no es útil para predecir la transformación maligna de la LPV, ya que la infección por VPH no está relacionada con la patogénesis de la lesión.⁶¹

En 2019, Wenyan et al.⁴⁴, examinaron la transformación maligna de las lesiones leucoplásicas orales en 76 pacientes utilizando la técnica de "reverse dot blot" para VPH, PCR VPH-ADN y inmunohistoquímica para detectar p16INK4A. La transformación a malignidad se observó en el 53,94% de las lesiones desde la primera evaluación hasta la final (con una media de menos de 2 años desde el diagnóstico). En este grupo, el 51% (21 pacientes) tenía sobreexpresión inicial de p16INK4a, mientras que la sobreexpresión final fue del 24%. La infección por VPH solo se encontró en los estándares tempranos de la lesión, no cuando se volvió maligna, por lo que no se puede atribuir una causa de carcinogénesis de la lesión. Además, debido a las condiciones histopatológicas del tejido y clínicas del paciente, se puede descartar que sea una infección oportunista. Por otro lado, se encontró que p16INK4a estuvo presente tanto en los estadios iniciales como en los seguimientos de las lesiones que no se malignizaron.

4.12 Inmunohistoquímica y virus del papiloma humano

Según su genotipo, los virus del papiloma humano (VPH) son exclusivamente epitelio trópicos e infectan el epitelio escamoso o mucoso de la piel. Según su asociación epidemiológica con el carcinoma del cuello uterino, los que infectan el epitelio de la mucosa se han clasificado en tipos de alto riesgo (VPH-16, 18, 31, 33 y 35) o en tipos de bajo riesgo (VPH-6, 11, 13 y 32). Estas categorías se han utilizado ampliamente en investigaciones sobre

el impacto oncogénico de las infecciones por VPH en todas las regiones anatómicas del tracto aerodigestivo superior.^{62, 63}

La presencia de ADN viral de VPH tipo 16 y 18 en muestras de leucoplasia verrucosa proliferativa oral demuestra la infección por estos VPH en la mucosa oral y su potencial contribución al desarrollo y progresión de la enfermedad. Se cree que las proteínas virales E6 y E7 de estos tipos de VPH desempeñan un papel importante en desregular los mecanismos celulares normales, lo que puede causar la transformación maligna de las células epiteliales.^{64, 65, 66}

Las oncoproteínas E6 y E7 se expresan en células de leucoplasia verrucosa proliferativa que están relacionadas causalmente con el VPH, a menudo estas muestran la integración viral en el genoma celular a pesar de que el gen E6 sigue siendo intacto. Es poco común que muestran una alta carga viral, una expresión reducida de proteínas Rb, una sobreexpresión funcional de p16 INK4A, un gen p53 no mutado y la pérdida de heterocigosidad (LoH) en los loci cromosómicos 3p, 9p y 17p.^{67, 68}

Es bien sabido que las leucoplasias no homogéneas experimentan transformaciones malignas con mayor frecuencia que las leucoplasias homogéneas; sin embargo, parece que el VPH se encuentra más a menudo en las leucoplasias homogéneas que en las no homogéneas como la leucoplasia verrucosa proliferativa. Dado que hay una baja carga viral en las lesiones potencialmente malignas citopositivas para el VPH y rara vez se encuentra integración viral, el papel del VPH en la patogénesis de la leucoplasia oral y en su progresión a carcinoma no está claro.^{69, 70}

4.13 Inmunohistoquímica para evaluar expresión del oncogen p16

La expresión de p16 por inmunohistoquímica puede detectar la actividad de la proteína p16INK4a en una variedad de tejidos biológicos, como las muestras de leucoplasia verrucosa proliferativa oral. La proteína p16INK4a se sobreexpresa en células infectadas por el Virus del Papiloma Humano (VPH), lo que indica la inhibición del ciclo celular.⁷¹

La inmunohistoquímica consiste en aplicar anticuerpos específicos contra la proteína p16INK4a a secciones de tejido extraídas de biopsias de lesiones orales. La expresión de p16INK4a en las células puede indicar la presencia de una infección por VPH y una sobreexpresión de proteínas.⁷²

La sobreexpresión de p16INK4a por inmunohistoquímica es un marcador útil para encontrar lesiones potencialmente relacionadas con el VPH, como la leucoplasia verrucosa proliferativa oral. Es importante tener en cuenta que la detección de p16INK4a no se limita a la infección por VPH y que otras condiciones pueden provocar una sobreexpresión.⁷³

La expresión del oncogén p16 por histoquímica en una muestra de tejido es un indicador importante en la evaluación de infecciones por el virus del papiloma humano (VPH). Según el tipo de VPH, una expresión débil y focal de p16 puede sugerir la presencia de un VPH de bajo riesgo o una carga viral baja de un VPH de alto riesgo. Según el estado de la lesión, puede indicar una lesión de bajo grado o una infección transitoria que no ha causado una transformación significativa del tejido.⁷⁴

Una expresión “fuerte difusa” de p16 por histoquímica en una muestra de tejido tiene una interpretación diferente y generalmente más significativa en el contexto de infecciones por el VPH. Según el tipo de VPH una expresión fuerte y difusa de p16 es altamente sugestiva de la presencia de un VPH de alto riesgo. Los tipos de VPH de alto riesgo, como VPH-16 y VPH-18, están más comúnmente asociados con este patrón de expresión. Según el estado de

la lesión, una expresión fuerte y difusa de p16 a menudo se observa en lesiones de alto grado, y potencialmente malignas.⁷⁵

4.14 Tratamientos de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral

4.14.1 Cese del tabaquismo y consumo de alcohol

Si el paciente presenta LVPO y tiene hábitos de consumo de tabaco y alcohol, es crucial abordar estos factores de riesgo como parte integral del tratamiento. El tabaco y el alcohol son conocidos por ser los principales factores de riesgo para el desarrollo y la progresión de lesiones precancerosas y cáncer oral. El tabaco, tanto fumado como masticado, contiene numerosos carcinógenos que pueden irritar y dañar el revestimiento de la boca, exacerbando la condición de LVPO y aumentando el riesgo de transformación maligna. Del mismo modo, el alcohol contribuye al daño celular y puede potenciar los efectos negativos del tabaco en la mucosa oral.⁷⁶

4.14.2 Eliminación de irritantes locales

Es esencial identificar y eliminar cualquier irritante local que pueda contribuir a la persistencia de la LVPO, ya que estos factores pueden prolongar la inflamación y dificultar la cicatrización adecuada de la mucosa oral afectada. Los bordes filosos de restauraciones dentales o prótesis mal ajustadas pueden causar trauma repetitivo en la mucosa oral, exacerbando la lesión y potencialmente promoviendo su persistencia.⁷⁷

4.14.3 Cirugía

La cirugía representa frecuentemente la opción necesaria para eliminar completamente la LVPO. Este procedimiento puede involucrar técnicas quirúrgicas convencionales, como la escisión con márgenes adecuados para asegurar la eliminación completa de la lesión y

prevenir su recurrencia. En casos más avanzados o donde se requiere mayor precisión, se utilizan métodos avanzados como la cirugía láser.⁷⁸

La escisión con márgenes adecuados implica la eliminación quirúrgica de la LVPO junto con un margen de tejido sano circundante para asegurar que todas las células anormales sean eliminadas por completo. Esto es crucial para reducir el riesgo de recurrencia y para la evaluación patológica precisa de los márgenes para descartar cualquier malignidad subyacente.⁷⁹

4.14.4 Terapia láser

El uso de láseres CO₂ y de diodo para el tratamiento de la LVPO representa una opción avanzada y eficaz en la práctica clínica actual. Estos láseres permiten una eliminación precisa de las células anormales asociadas con la LVPO, minimizando el daño al tejido circundante y reduciendo el riesgo de sangrado durante el procedimiento. La capacidad de coagular pequeños vasos sanguíneos ayuda a mantener un campo quirúrgico limpio y a promover una recuperación más rápida y cómoda para el paciente. Además, la energía láser estimula la cicatrización de manera efectiva, lo que puede llevar a tiempos de recuperación más cortos y una menor incidencia de complicaciones postoperatorias. Esta tecnología también ofrece la ventaja de reducir el riesgo de recurrencia de la lesión, siempre y cuando se realice una eliminación completa y adecuada de la LVPO.^{80, 81}

4.14.5 Seguimiento y vigilancia

Después del tratamiento inicial para la LVPO, es fundamental establecer un seguimiento periódico para evaluar la cicatrización y supervisar cualquier signo de recurrencia o desarrollo de nuevas lesiones. Este seguimiento regular permite detectar tempranamente cualquier cambio en la mucosa oral y tomar medidas preventivas o terapéuticas adicionales

según sea necesario. Los controles periódicos generalmente incluyen exámenes clínicos detallados y, en algunos casos, biopsias de seguimiento para evaluar la salud del tejido tratado y descartar cualquier indicio de malignidad residual o nueva lesión. Este enfoque proactivo es crucial para garantizar resultados óptimos a largo plazo y mantener la salud oral del paciente afectado por LVPO.^{82, 83}

4.14.6 Tratamientos complementarios

En algunos casos, se pueden considerar tratamientos complementarios como la terapia fotodinámica (PDT) o el uso de ácido retinoico tópico para mejorar los resultados del tratamiento y reducir la recurrencia de la LVPO. La PDT utiliza una combinación de fotosensibilizadores y luz específica para destruir células anormales, mientras que el ácido retinoico promueve la regeneración celular y puede ayudar en la cicatrización después de la eliminación de la lesión. Estos enfoques pueden ser considerados según la evaluación del profesional de salud oral para optimizar los resultados clínicos.⁸⁴

5. Formulación de hipótesis

H1: La expresión del oncogen p16 desempeña un papel crucial en la patogénesis de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral e interviene en la progresión de esta lesión precancerosa en la cavidad oral.

H0: La expresión del oncogen p16 no desempeña un papel crucial en la patogénesis de la leucoplasia verrucosa proliferativa oral ni interviene en la progresión de esta lesión precancerosa en la cavidad oral.

6. Marco metodológico

6.1 Tipo de estudio

Correspondió a un estudio del tipo experimental y transversal, pues se realizó un seguimiento de casos con diagnóstico histopatológico de leucoplasia verrucosa proliferativa oral en un periodo de tiempo determinado para establecer la asociación de la expresión del oncogen p16 con la progresión de esta lesión en la cavidad oral.

6.2 Población y muestra

La población del presente estudio se conformó por 40,373 biopsias de los casos diagnosticados clínico-patológicamente de la consulta de estomatología del Instituto Dermatológico Dominicano y Cirugía de piel Dr. Huberto Bogaert (IDCP) y del Laboratorio de Histopatología del mismo en el periodo de 2018-2024. En el año 2021 se reportaron 11,698 biopsias, en el año 2022 fueron 12,600, en el año 2023 11,500 y en el año 2024 fueron 4,575.

6.3 Selección de muestra

La muestra de la presente investigación fue obtenida mediante un muestreo no probabilístico a conveniencia obteniendo una muestra de 12 pacientes con diagnóstico de LVPO.

6.4 Criterios de inclusión

- Pacientes con el diagnóstico clínico-patológico de leucoplasia verrucosa proliferativa oral.
- Pacientes mayores de 18 años de edad.
- Pacientes que acuden a la consulta de estomatología del Instituto Dermatológico Dominicano y Cirugía de piel Dr. Huberto Bogaert (IDCP).
- Tiempo de evolución
- Lesiones multifocales
- Leucoplasias no homogéneas en ambos géneros
- Pacientes con dx de hiperqueratosis/ paraqueratosis y/o ortoqueratosis y acantosis .
- Displasia epitelial leve , moderada y severa
- Carcinoma superficialmente invasivo

6.5 Criterios de exclusión

- Expedientes clínicos de pacientes con diagnóstico de leucoplasia verrucosa proliferativa oral con información incompleta o ausencia de datos requeridos para la presente investigación.
- Pacientes con historia de leucoplasia homogénea en la mucosa oral, con diagnóstico posterior de otras entidades como liquen plano oral, lesiones liquenoides orales (LLO), Lupus eritematoso, Nevus esponjoso blanco, carcinoma de células escamosas de diferentes grados, carcinoma verrucoso, leucoedema, desórdenes potencialmente malignizables o leucoplasia vellosa.

6.6 Operacionalización de las variables

Tabla 1. Operacionalización de las variables

<i>Variable</i>	<i>Variable</i>	<i>Tipo y subtipo</i>	<i>Definición</i>	<i>Definición operacional</i>
Independiente	Género	1. Cualitativa 2. Nominal	Condición orgánica que define a las personas como femenino y masculino.	Masculino Femenino
Independiente	Edad	1. Cuantitativa 2. discreta	El tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo en años cumplidos.	18-30 años 31-40 años 41-50 años 51-60 años
Independiente	Factores de riesgo	1. Cualitativa 2. Nominal	Conducta o característica biológica que incrementa la probabilidad de padecer o morir de algunas enfermedades en aquellos personas que la presentan.	Enfermedad de transmisión sexual (ETS) Consumo de Alcohol Consumo de drogas Fumador (Tabaco, Cigarrillo o Vape) Ninguno
Independiente	Tiempo de evolución	1. Cualitativa 2. discreta	Tiempo que pasa desde el diagnóstico de una enfermedad hasta que la misma empieza a diseminarse o se cura.	Tiempo en años
Independiente	Sitio anatómico	1. Cualitativa 2. Nominal	Es la descripción de cualquier región o parte del cuerpo en relación a una postura determinada.	Paladar duro Paladar blando Mucosa alveolar Lengua Piso de boca

				Encías Labio superior Labio inferior
Dependiente	Diagnóstico histopatológico	1. Cualitativa 2. Nominal	Procedimiento para la identificación de una enfermedad mediante el estudio microscópico de las células y el tejido enfermo.	Hiperqueratosis, Ortoqueratosis y Paraqueratosis simple Hiperplasia verrucosa Carcinoma verrucoso Carcinoma de células escamosas
Independiente	Expresión del Oncogen <i>p16</i>	1. Cualitativa 2. Nominal	Gen de supresión tumoral implicado en el procesamiento de la proteína 16kDa que regula el ciclo celular.	Focal Difuso
Dependiente	Intensidad de expresión del oncogen <i>p16</i>	1. Cualitativa 2. Nominal	Grado de fuerza con el cual un gen se activa en una célula para elaborar ARN y proteínas.	Focal (Débil) Difuso (Fuerte)

6.7 Aspecto éticos

Este estudio se sustenta de acuerdo con el Comité de Ética de UNIBE (CEI2024-0588), el cual se fundamenta en los principios del informe de Belmont que enfatiza el respeto a los participantes, beneficencia y justicia. Además se obtuvieron los permisos pertinentes por el departamento correspondiente del Instituto Dermatológico Dominicano y Cirugía de piel Dr. Huberto Bogaert (IDCP). El instrumento de recolección de los datos fue por método de

extracción de base datos de los expedientes clínicos, por esta razón los pacientes no estuvieron expuestos a ningún tipo de intervención que pueda poner en riesgo su salud o exponer su cuerpo. Es importante destacar que fueron excluidos los grupos vulnerables (ej. embarazadas, personas discapacitadas, personas con trastornos mentales, etc.).

A cada expediente clínico que se utilizó en esta investigación se le asignó un código con la finalidad de preservar la confidencialidad de los datos que puedan identificar la identidad de los pacientes. Es importante mencionar que la base de datos fue del manejo exclusivo de los investigadores que realizaron este proyecto de grado.

6.8 Métodos e instrumento de recolección de datos



EXPRESIÓN DEL ONCOGEN P16 EN LEUCOPLASIA VERRUCOSA PROLIFERATIVA ORAL

- | | |
|---|---|
| 1. Número de expediente
_____ | sexual (ETS) |
| 2. Número de biopsia:
_____ | b) Consumo de Alcohol |
| 3. Edad del paciente: | c) Consumo de drogas |
| a) 20-30 años | d) Fumador (Tabaco, Cigarrillo o Vape) |
| b) 31-40 años | e) Ninguno |
| c) 41-50 años | 6. Tiempo de evolución:
_____ |
| d) 51-60 años | 7. Sitio anatómico: |
| 4. Género: | a) Paladar duro |
| a) Femenino | b) Paladar blando |
| b) Masculino | c) Mucosa alveolar |
| 5. Factores de riesgo: | d) Lengua |
| a) Enfermedad de transmisión | e) Piso de boca |

- f) Encías
- g) Labio superior
- h) Labio inferior

8. Diagnóstico histopatológico:

- a) Hiperqueratosis simple
- b) Hiperplasia verrucosa
- c) Carcinoma verrucoso
- d) Carcinoma espinocelular

9. Expresión del oncogen p16:

- a) Positivo
- b) Negativo

10. Intensidad

- a) Leve
- b) Moderado
- c) Fuerte

11. Patrón focal

- a) Presente
- b) Ausente

12. Patrón difuso

- a) Presente
- b) Ausen

6.9 Plan de análisis de los resultados

Los datos observados y analizados en la presente investigación, son el resultado de la medición de las variables en estudio, en los 12 pacientes investigados quienes fueron diagnosticados con LVPO de los cuales 11 eran mujeres y 1 hombre, 7 de los mismos presentaron la expresión del oncógen p16. Estos datos nos proporcionan la información necesaria para cuantificar los objetivos establecidos en esta investigación.

Para el análisis de la genotipificación del oncogen p16 en las biopsias de los tejidos se optó por cortes de 5 micras de bloques de parafina y se colocaron en empendorf. Mediante este método se podía realizar la detección y cuantificación simultánea de los siguientes 19 genotipos de VPH bajo riesgo:

- Papilomavirus Humano 11, 40,42, 43, 44,54,6,61,70 (HPV 11, 40,42, 43, 44,54,6,61,70).

Se realizó un sistema de PCR en tiempo real CFX96™ en reacciones de 20 µl que contenían mezcla de cebado HPV 28 A o B. Después de un paso inicial de 50 grados celsius durante 4 minutos y un paso de desnaturalización a 95 grados celsius durante 15 minutos, las mezclas de reacción se sometieron a 30 ciclos a 95 grados celsius durante 30 segundos, seguidos de 60 grados celsius durante 60 segundos y 72 grados celsius durante 30 segundos. A esto le siguió una etapa de 55 grados celsius durante 30 segundos y un análisis de la curva de fusión de 55 a 85 grados celsius (5s/0,5 celsius). Las reacciones se continuaron ciclandose a las mismas temperaturas durante 10 ciclos seguidos del análisis de la curva de fusión y esto se repitió una vez más durante otro 10 ciclos. Los datos de la curva de fusión se obtuvieron a los 30, 40 y 50 ciclos. Para esta prueba se realizaron 3 controles positivos, estas muestras positivas fueron indicadas por los resultados a 30 (+++), 40 (++) o 50 (+) ciclos.

Los datos recopilados fueron registrados en una hoja de cálculo diseñada en el programa Microsoft Excel para almacenar la información asociada a todas las variables en estudio. Los análisis estadísticos se realizaron con los programas Office Excel 2016 para Windows®, el software estadístico SPSS IBM ® en español en versión número 24.0 para Windows 10 ®.

En la presente investigación se realizaron tablas bidimensionales de frecuencia, para conocer el comportamiento individual y conjunto de las variables de interés, las cuales nos permiten cuantificar los objetivos de la investigación, además se presentan gráficamente dichos valores para conocer de forma sencilla el comportamiento de las variables de interés. En la presente investigación el tamaño de muestra tan pequeño impide que se realicen pruebas de hipótesis en las variables cualitativas analizadas.

7. Análisis de resultados

A continuación, se muestra el análisis de los resultados más relevantes de la investigación. Se inicia este capítulo mostrando el comportamiento del diagnóstico histopatológico de acuerdo al género de los pacientes evaluados.

Tabla 1. Diagnóstico histopatológico de acuerdo al género de los pacientes evaluados.

Diagnóstico histopatológico	Género				Total	%
	Femenino	%	Masculino	%		
Ortoqueratoris						
No	5	41,7%	1	8,3%	6	50,0%
Si	6	50,0%	0	0,0%	6	50,0%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Acantosis						
No	1	8,3%	0	0,0%	1	8,3%
Si	10	83,3%	1	8,3%	11	91,7%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Coilocitosis						
No	8	66,7%	1	8,3%	9	75,0%
Si	3	25,0%	0	0,0%	3	25,0%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Displasia leve						
No	2	16,7%	0	0,0%	2	16,7%
Si	9	75,0%	1	8,3%	10	83,3%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Displasia moderada						
No	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Si	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Displasia severa						
No	10	83,3%	1	8,3%	11	91,7%

Si	1	8,3%	0	0,0%	1	8,3%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Paraqueratosis	Femenino	%	Masculino	%	Total	%
No	6	50,0%	0	0,0%	6	50,0%
Si	5	41,7%	1	8,3%	6	50,0%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%

Fuente: Propia de la investigación

En la Tabla 1 se observa que 11 pacientes evaluados eran mujeres (91,7%) y solo 1 era hombre (8,3%). También se aprecia que el diagnóstico histopatológico más frecuente en los 12 pacientes fue la acantosis, que se observó en 11 pacientes (91,7%), seguido de la displasia epitelial leve observada en 10 pacientes (83,3%), la ortoqueratosis y la paraqueratosis se observaron en 6 pacientes (50,0%). Los cambios histopatológicos menos frecuente incluyen, la displasia severa observada en un paciente (8,3%), coilocitosis observada en 3 pacientes (25,0%).

El único hombre analizado presentó los siguientes diagnósticos histopatológicos: Acantosis, displasia leve y paraqueratosis, los restantes no los presentó. Por su parte los diagnósticos histopatológicos más presentes en las mujeres fueron: Acantosis en 10, la displasia leve en 9 y la ortoqueratosis en 6 mujeres. Los diagnósticos menos frecuentes en las mujeres son la paraqueratosis en 5, coilocitosis en 3 y la displasia severa en 1.

Tabla 2. Diagnóstico histopatológico de acuerdo a la edad de los pacientes evaluados.

Diagnóstico histopatológico	Edad	Total	%
-----------------------------	------	-------	---

	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Más de 60 años	%		
Ortoqueratoris								
No	2	16,7%	2	16,7%	2	16,7%	6	50,0%
Si	0	0,0%	1	8,3%	5	41,7%	6	50,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Acantosis	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Más de 60 años	%	Total	%
No	0	0,0%	0	0,0%	1	8,3%	1	8,3%
Si	2	16,7%	3	25,0%	6	50,0%	11	91,7%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Coilocitosis	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Más de 60 años	%	Total	%
No	1	8,3%	3	25,0%	5	41,7%	9	75,0%
Si	1	8,3%	0	0,0%	2	16,7%	3	25,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Displasia epitelial leve	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Más de 60 años	%	Total	%
No	1	8,3%	0	0,0%	1	8,3%	2	16,7%
Si	1	8,3%	3	25,0%	6	50,0%	10	83,3%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Displasia epitelial moderada	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Más de 60 años	%	Total	%
No	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Si	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Displasia epitelial severa	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Más de 60 años	%	Total	%
No	2	16,7%	3	25,0%	6	50,0%	11	91,7%
Si	0	0,0%	0	0,0%	1	8,3%	1	8,3%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%

Paraqueratosis	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Más de 60 años	%	Total	%
No	0	0,0%	1	8,3%	5	41,7%	6	50,0%
Si	2	16,7%	2	16,7%	2	16,7%	6	50,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%

Fuente: Propia de la investigación.

En la Tabla 2 se observa que 7 pacientes evaluados tenían más de 60 años (58,3%), seguido de 3 que tenían de 41 a 60 años (25,0%) y 2 tenían hasta los 40 años de edad (16,7%). La ortoqueratosis estuvo presente en 5 pacientes que tenían más de 60 años (41,7%), mientras que los pacientes que tenían hasta los 60 años, en su mayoría no la presentaron.

La acantosis estuvo presente en 11 pacientes (91,7%), es decir, se presentó mayoritariamente en todos los rangos de edad considerados. La displasia leve estuvo presente en 10 pacientes (83,3%), además se presentó mayoritariamente en todos los rangos de edad considerados. La coilocitosis, la displasia epitelial moderada y severa estuvo presente en la minoría de los pacientes en todos los rangos de edad analizados.

Por su parte los diagnósticos histopatológicos más presentes en las mujeres fueron: la acantosis en 10, la displasia epitelial leve en 9 y la ortoqueratosis en 6 mujeres. Los diagnósticos menos frecuentes en las mujeres son la paraqueratosis en 5, la coilocitosis en 3 y la displasia severa en 1. La paraqueratosis estuvo presente en la mayoría de los pacientes que tenían hasta 60 años (33,4%), mientras que en los pacientes que tenían más de los 60 años, en su mayoría no la presentaron (41,7%).

Tabla 3. Comportamiento del diagnóstico clínico de acuerdo al género de los pacientes analizados.

Diagnóstico clínico	Género				Total	%
Leucoplasia verrucosa	Femenino	%	Masculino	%		
No	1	8,3%	0	0,0%	1	8,3%
Si	10	83,3%	1	8,3%	11	91,7%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Carcinoma verrucoso	Femenino	%	Masculino	%	Total	%
No	10	83,4%	1	8,3%	11	91,7%
Si	1	8,3%	0	0,0%	1	8,3%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Carcinoma de células escamosas	Femenino	%	Masculino	%	Total	%
No	11	91,7%	1	8,3%	12	100%
Si	0	0,0%	0	0,0%	0	0%
Total	11	91,7%	1	8,3%	12	100%

Fuente: Propia de la investigación.

En la tabla 3 se observa que el diagnóstico clínico más frecuente en los 12 pacientes fue la Leucoplasia verrucosa oral, que se observó en 11 pacientes (91,7%), mientras que el Carcinoma verrucoso se observó en sólo 1 paciente (8,3%) y el Carcinoma de células escamosas no se observó en ningún paciente (0,0%).

El único hombre analizado presentó Leucoplasia verrucosa oral. Por su parte el diagnóstico clínico más presente en las mujeres fue: la Leucoplasia verrucosa oral en 10 (83,3%), mientras que el Carcinoma verrucoso se presentó en 1 mujer (8,3%) y el Carcinoma de células escamosas no se presentó en ninguna mujer (0,0%).

Tabla 4. Diagnóstico clínico de acuerdo a la edad de los pacientes evaluados.

Diagnóstico clínico	Edad						Total	%
	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%		
Leucoplasia verrucosa								
No	0	0,0%	0	0,0%	1	8,3%	1	8,3%
Si	2	16,7%	3	25,0%	6	50,0%	11	91,7%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Carcinoma verrucoso								
No	2	16,7%	3	25,0%	6	50,0%	11	91,7%
Si	0	0,0%	0	0,0%	1	8,3%	1	8,3%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Carcinoma de células escamosas								
No	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Si	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%

Fuente: Propia de la investigación

En la tabla 4 se observa que el diagnóstico clínico más frecuente en los 12 pacientes fue la Leucoplasia verrucosa oral , que se observó en 11 pacientes (91,7%), mayoritariamente en todos los rangos de edades.

El Carcinoma verrucoso solo se observó en sólo 1 paciente (8,3%) de más de 60 años y el Carcinoma de células escamosas no se observó en ningún paciente (0,0%). Además se observó en la muestra el comportamiento de la zona anatómica de acuerdo a la edad de los pacientes analizados.

Tabla 5. Sitio anatómica de acuerdo a la edad de los pacientes evaluados.

Sitio anatómicas	Edad						Total	%
	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%		
Paladar duro								

No	2	16,7%	3	25,0%	4	33,3%	9	75,0%
Si	0	0,0%	0	0,0%	3	25,0%	3	25,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Paladar blando	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%	Total	%
No	2	16,7%	3	25,0%	5	41,7%	10	83,3%
Si	0	0,0%	0	0,0%	2	16,7%	2	16,7%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Carrillo	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%	Total	%
No	2	16,7%	2	16,7%	5	41,7%	9	75,0%
Si	0	0,0%	1	8,3%	2	16,7%	3	25,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Mucosa alveolar	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%	Total	%
No	2	16,7%	3	25,0%	5	41,7%	10	83,3%
Si	0	0,0%	0	0,0%	2	16,7%	2	16,7%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Dorso de la lengua	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%	Total	%
No	1	8,3%	1	8,3%	4	33,3%	6	50,0%
Si	1	8,3%	2	16,7%	3	25,0%	6	50,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Base de la lengua	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%	Total	%
No	2	16,7%	2	16,7%	6	50,0%	10	83,3%
Si	0	0,0%	1	8,3%	1	8,3%	2	16,7%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Piso de boca	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%	Total	%
No	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Si	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%

Encías	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%	Total	%
No	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Si	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Labio superior	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%	Total	%
No	2	16,7%	3	25,0%	6	50,0%	11	91,7%
Si	0	0,0%	0	0,0%	1	8,3%	1	8,3%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%
Labio inferior	Hasta 40 años	%	De 41 a 60 años	%	Mas de 60 años	%	Total	%
No	1	8,3%	3	25,0%	6	50,0%	10	83,3%
Si	1	8,3%	0	0,0%	1	8,3%	2	16,7%
Total	2	16,7%	3	25,0%	7	58,3%	12	100%

Fuente: Propia de la investigación.

En la tabla 5 se observa que la zona anatómica más frecuente en los 12 pacientes fue el Dorso de la lengua, que se observó en 6 pacientes (50,0%), de los cuales 3 de ellos (25,0%) tenían más de 60 años, 2 tenían de 41 a 60 años (16,7%) y 1 tenían menos de 40 años.

El paladar duro y el carrillo fue la zona anatómica afectada en 3 pacientes (25,0%), donde casi todos tenían más de 60 años de edad.

El paladar blando, la mucosa alveolar, la base de lengua y el labio inferior fueron la zona afectada en 2 pacientes, donde casi todos tenían más de 60 años de edad.

Solo 1 paciente (8,3%) presentó afectación en el labio superior y tenía más de 60 años de edad. No hubo pacientes que presentaron afectación en el piso de boca y encía.

Seguidamente se muestra el comportamiento del diagnóstico histopatológico de acuerdo a la expresión del oncogen p16 de los pacientes analizados. Antes de realizar el análisis

debemos indicar que hubo 2 pacientes a los cuales se les realizó 4 biopsia, por esta razón el número de biopsias analizadas es 18 en los 12 pacientes investigados.

Tabla 6. Diagnóstico histopatológico de acuerdo a la expresión del oncogen p16 de los pacientes evaluados.

Diagnóstico histopatológico	Expresión del oncogen p16				Total	%
	Negativ	%	Positiv	%		
* Ortoqueratoris	0	%	0	%	Total	%
No	5	27,8%	4	22,2%	9	50,0%
Si	6	33,3%	3	16,7%	9	50,0%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%
* Acantosis	Negativ	%	Positiv	%	Total	%
No	1	5,6%	0	0,0%	1	5,6%
Si	10	55,6%	7	38,9%	17	94,4%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%
* Coilocitosis	Negativ	%	Positiv	%	Total	%
No	9	50,0%	6	33,3%	15	83,3%
Si	2	11,1%	1	5,6%	3	16,7%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%
* Displasia epitelial leve	Negativ	%	Positiv	%	Total	%
No	1	5,6%	1	5,6%	2	11,1%
Si	10	55,6%	6	33,3%	16	88,9%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%
* Displasia epitelial moderada	Negativ	%	Positiv	%	Total	%
No	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%
Si	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%
* Displasia epitelial severa	Negativ	%	Positiv	%	Total	%
	0	%	0	%	Total	%

No	11	61,1 %	6	33,3 %	17	94,4%
Si	0	0,0%	1	5,6%	1	5,6%
Total	11	61,1 %	7	38,9 %	18	100,0 %
* Paraqueratosis	Negativ 0	%	Positiv 0	%	Total	%
No	6	33,3%	3	16,7%	9	50,0%
Si	5	27,8%	4	22,2%	9	50,0%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%

Fuente: Propia de la investigación .

En la tabla 6 se observa que 7 de las biopsias analizadas de los pacientes resultaron positivas en la expresión del oncogén p16 (38,9%) y 11 resultaron negativas (61,1%).

También se aprecia que hubo 7 biopsias que resultaron positivas (38,9%) con la expresión del oncogen p16 provenientes de pacientes con acantosis en el diagnóstico histopatológico.

Seguido de 6 biopsias que resultaron positivas (33,3%) con la expresión del oncogen p16 provenientes de pacientes con displasia leve en el diagnóstico histopatológico y solo 1 de estos no la presentó (5,6%).

Hubo 4 biopsias que resultaron positivas (22,2%) con la expresión del oncogen p16 provenientes de pacientes con paraqueratosis en el diagnóstico histopatológico y los restantes 3 no la presentaron (16,7%). Además 3 biopsias que resultaron positivas (16,7%) con la expresión del oncogen p16 provenientes de pacientes con ortoqueratosis en el diagnóstico histopatológico y los restantes 4 no la presentaron (22,2%).

Solo 1 que resultó positiva (5,6%) con la expresión del oncogen p16 proveniente de paciente con coilocitosis y displasia epitelial severa en el diagnóstico histopatológico y los restantes 6 no la presentaron (33,3%).

Seguidamente se muestra el comportamiento del diagnóstico clínico de acuerdo a la expresión del oncogen p16 de los pacientes analizados.

Tabla 7. Diagnóstico clínico de acuerdo a la expresión del oncogen p16 de los pacientes evaluados.

Diagnóstico clínico	Expresión del oncogen p16				Total	%
	Negativo	%	Positivo	%		
* Leucoplasia verrucosa						
No	0	0,0%	1	5,6%	1	5,6%
Si	11	61,1%	6	33,3%	17	94,4%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%
* Carcinoma verrucoso						
No	9	50,0%	5	27,8%	14	77,8%
Si	2	11,1%	2	11,1%	4	22,2%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%
* Carcinoma de células escamosas						
No	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%
Si	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%

Fuente: Propia de la investigación .

En la tabla 7 se observa que 7 de las biopsias analizadas de los pacientes resultaron positivas en la expresión del oncogen p16 (38,9%) y 11 resultaron negativas (61,1%). También se aprecia que hubo 6 biopsias que resultaron positivas (33,3%) con la expresión del oncogen p16 provenientes de pacientes con leucoplasia verrucosa como diagnóstico clínico y 1 biopsia (5,6%) proviene de paciente que no tenía este diagnóstico.

Dos de las biopsias (11.1%) tenían diagnóstico clínico de carcinoma de células escamosas Y estas además expresaron el oncogén p16, de las restantes biopsias , 5 (27,8%) provenían de pacientes negativos a este diagnóstico .No hubo biopsias que resultó positiva (0,0%) con la expresión del oncogen p16 proveniente de paciente con carcinoma de células escamosas en el

diagnóstico clínico y las 7 biopsias provienen de pacientes que no presentaron este diagnóstico (38,9%).

Para finalizar se muestra el comportamiento del VPH de acuerdo a la expresión del oncogen p16 de los pacientes analizados.

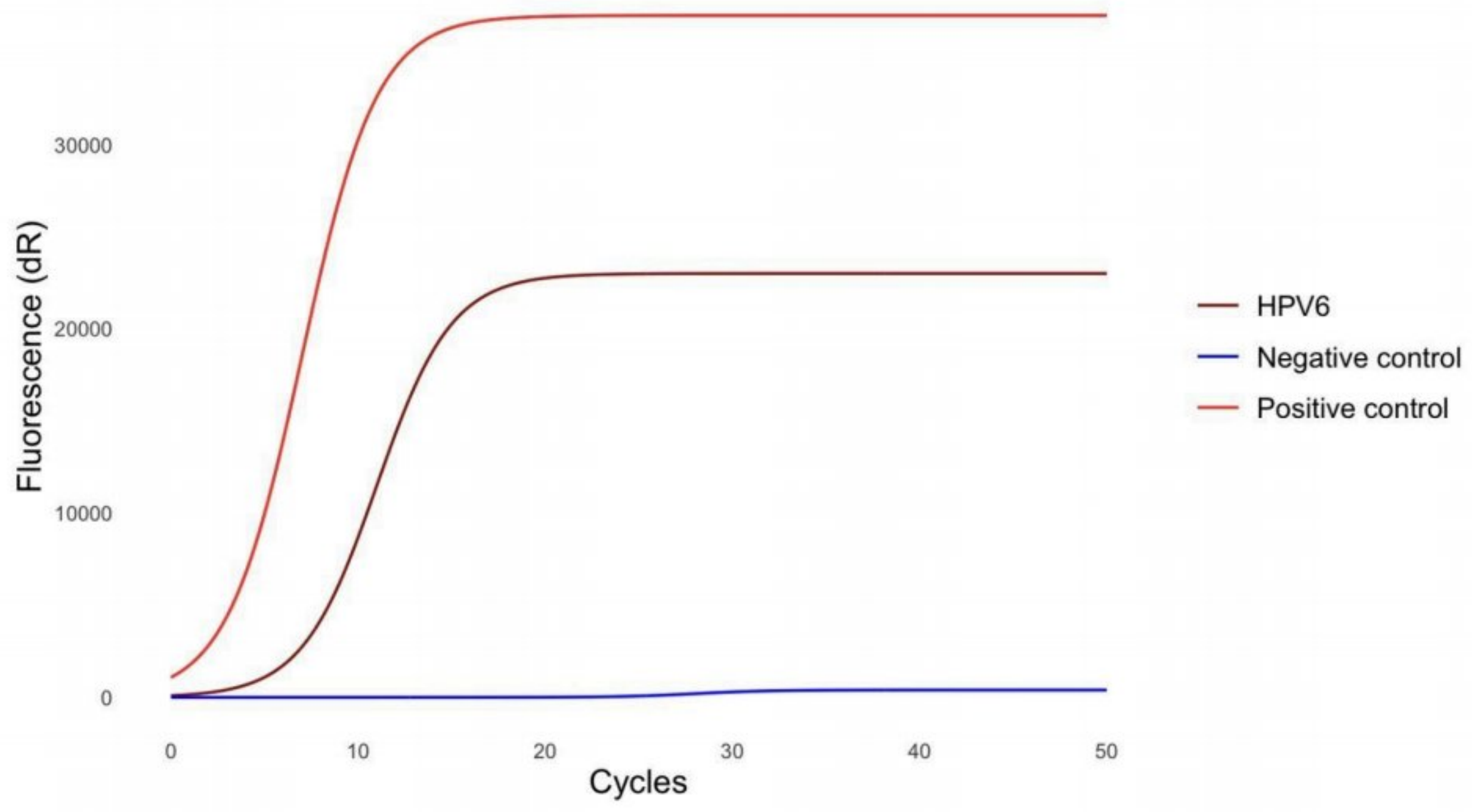
Tabla 8. VPH de acuerdo a la expresión del oncogen p16 de los pacientes evaluados.

VPH	Expresión del oncogen p16				Total	%
	Negativo	%	Positivo	%		
VPH negativo	0	0,0%	3	16,7%	3	16,7%
VPH 6	0	0,0%	2	11,1%	2	11,1%
VPH 6,40	0	0,0%	1	5,6%	1	5,6%
VPH 11	0	0,0%	1	5,6%	1	5,6%
No	11	61,1%	0	0,0%	11	61,1%
Total	11	61,1%	7	38,9%	18	100,0%

Fuente: Propia de la investigación.

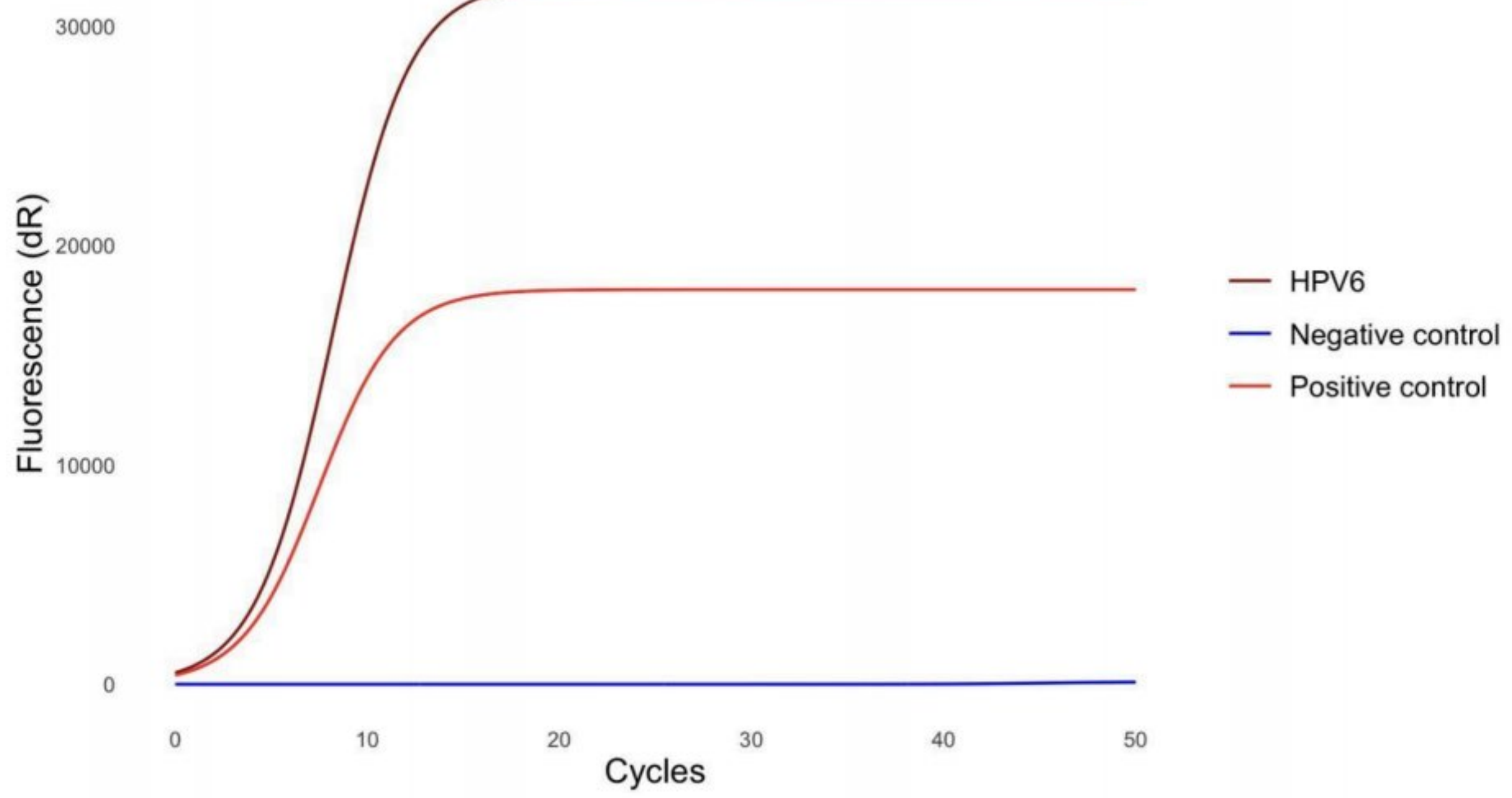
En la tabla 8 se observa que 7 de las biopsias analizadas de los pacientes resultaron positivas en la expresión del oncogén p16 (38,9%) y 11 resultaron negativas (61,1%). De las 7 biopsias que resultaron positivas, 3 de ellas tenían VPH negativo (16,7%), 2 biopsias tenían VPH 6 (11,1%) y 1 biopsia tenía VPH 6,40 y otra VPH 11 (5,6%).

Gráfico 1. Resultado de la genotipificación de VPH en casos con diagnóstico de LVPO.



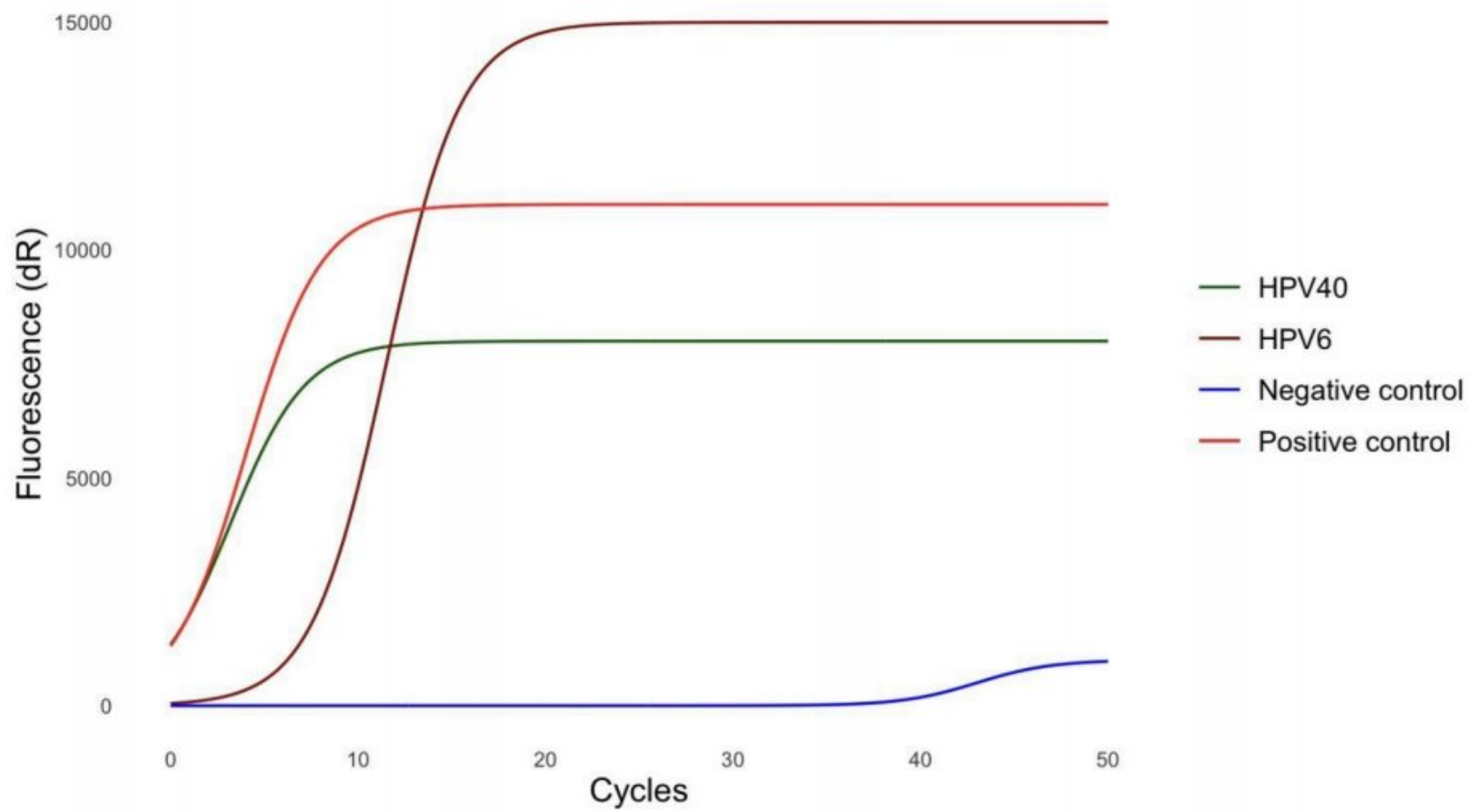
Fuente: Propia de la investigación.

Gráfico 2. Resultado de la genotipificación de VPH en casos con diagnóstico de LVPO.



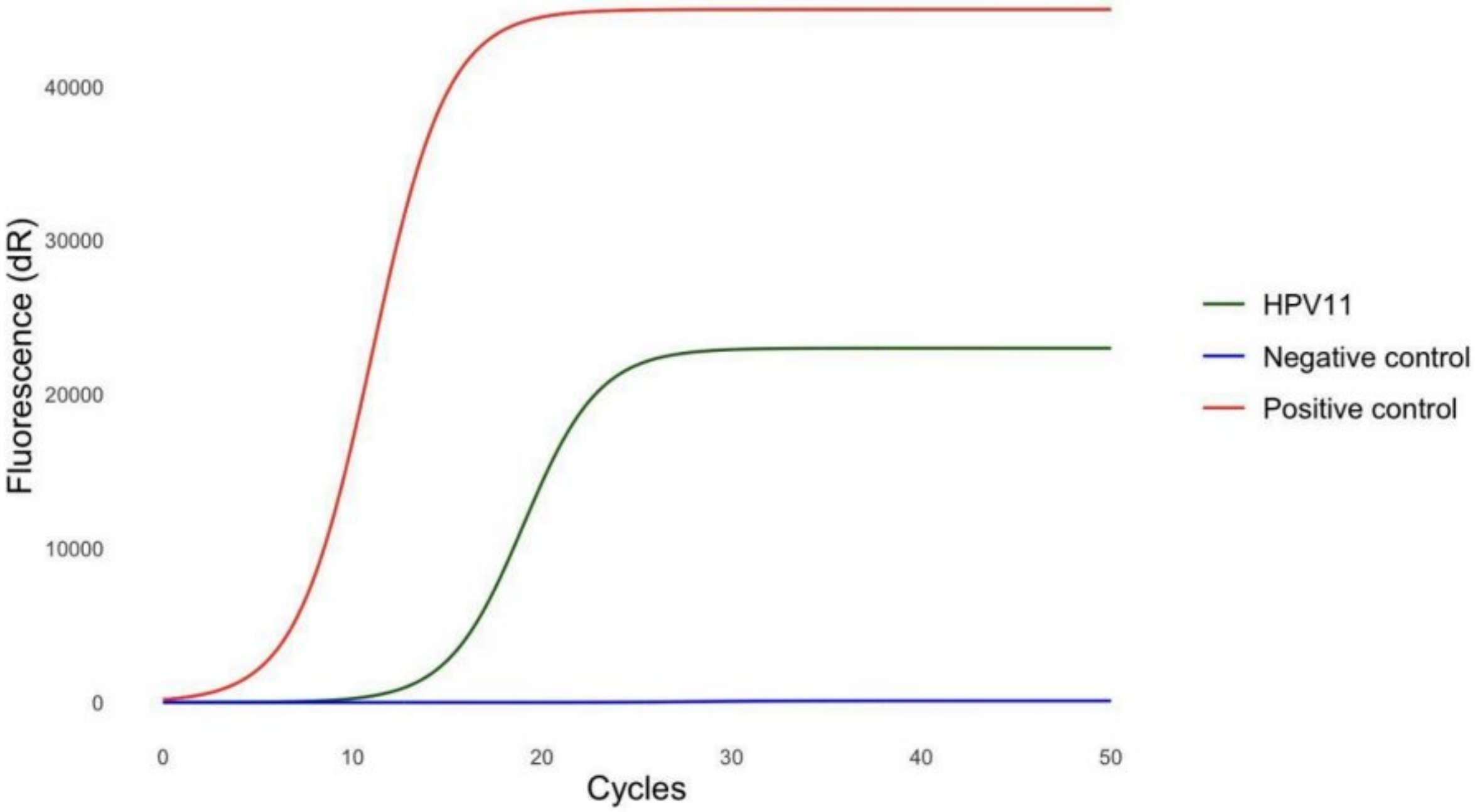
Fuente: Propia de la investigación.

Gráficos 3. Resultado de la genotipificación de VPH en casos con diagnóstico de LVPO.



Fuente: Propia de la investigación.

Gráficos 4. Resultado de la genotipificación de VPH en casos con diagnóstico de LVPO.



Fuente: Propia de la investigación.

8. Discusión

En el año 2022, la Organización Mundial de la Salud (OMS) realizó actualizaciones en las clasificaciones de diversas patologías y condiciones incluyendo la LVPO. Debido a esto, la LVPO se reconoce ahora más claramente como una tipo de leucoplasia no homogénea, con una alta tasa de transformación maligna en comparación con otras formas de LO.⁸⁵

En relación a la presentación clínica de las lesiones de LVPO al momento de la evaluación de la cavidad oral, Thompson et al⁸⁶ mencionan en su estudio que se observan lesiones blancas/queratósicas en la encía que a menudo muestran un anillo alrededor donde la lesión parece seguir la encía marginal alrededor del diente. Estos también destacan que el aspecto clínico de las lesiones de la LVPO puede variar de liso a fisurado/verruciforme o lesiones verrugosas, y también puede abarcar lesiones eritematosas o ulceradas. La localización anatómica más frecuente de las lesiones de LVPO es la encía en el 50.9% de los casos mencionado por Torrejon-Moya et al⁸⁷, seguido por la mucosa bucal con un 44.9% y la lengua con un 40.6%. Estos resultados difieren de lo expuesto en nuestro estudio debido a que la zona anatómica más frecuente fue el dorso de la lengua con un 50% de los casos estudiados, seguido por el paladar duro y de cara externa con un 25%. En nuestro estudio no se observaron lesiones en las encías o el piso de la boca.

Con respecto al género, Pentenero et al⁸⁸ evidenciaron en su estudio observacional prospectivo de cohortes que la proporción de géneros dentro de la leucoplasia oral estaba relativamente equilibrada, mientras que había un predominio femenino significativo entre los pacientes con LPVO debido a que el 85% (n=17) de los casos pertenencia a pacientes femeninas y solo un 15% (n=3) a individuos masculinos. Se observó por igual una mayor predominancia del género femenino al analizar los características de los casos con evolución maligna, donde el 100% (n=10) eran individuos del género femenino. El autor enfatiza que

aunque la proporción entre hombres y mujeres entre los pacientes con LVPO estaba bastante equilibrada, había un llamativo predominio femenino entre los pacientes con progresión. Sin embargo, el análisis univariante de Kaplan-Meier no mostró pruebas sólidas de diferencias entre géneros, probablemente debido a un tamaño muestral subóptimo. Estos hallazgos concuerdan con los resultados del presente estudio, debido a que el 91.7% de los casos eran pacientes del género femenino y solo un 8.3% eran hombres.

Palaia et al ⁸⁹ indican que las mujeres están más afectadas en el diagnóstico de LPVO con un 66.7% (n=416) que los hombres y en especial al momento de la vejez con una edad media de 70, 2 años. Además se evidenció un riesgo con significancia estadística 3,8 veces mayor de progresión a carcinoma de células escamosas oral convencional en comparación con carcinoma verrucoso oral, siendo las mujeres 1,7 veces más propensas a desarrollar cáncer oral que los hombres. Además, se halló una probabilidad estadísticamente significativa mayor de desarrollar un carcinoma de células escamosas oral convencional en las pacientes con LPVO que en los varones. El género femenino es el más afectado, especialmente con antecedentes negativos de consumo de alcohol y tabaco. Estos hallazgos concuerdan con los obtenidos en nuestro estudio donde el 83.3% presentó el diagnóstico clínico más frecuente siendo este la LVPO en el género femenino.

Zhang et al ⁹⁰ establece que la edad media al momento del diagnóstico inicial de pacientes fue de 62,97 años. De un total de 36 pacientes diagnosticados de LVPO, 20 eran mujeres y 16 varones, lo que arroja una proporción mujer-hombre de 1:1. Correlacionar la edad con el género se observó que la edad media de las pacientes femeninas al momento del diagnóstico inicial era de $65,00 \pm 8,49$ años, superior a la de los varones. Todas las pacientes tenían más de 50 años en el momento del diagnóstico inicial, y el 65% tenía 60 años o más. Los autores indican que la mayoría de los pacientes fueron diagnosticados a una edad superior a los 60 años, con un riesgo muy elevado de que la LPVO se convirtiera en cáncer oral y sin hallazgos

histopatológicos especiales. Igualmente, en el presente estudio se observó una mayor frecuencia de pacientes con 60 años de edad o más en el 58,3% de los casos seguido por el rango de 41 a 60 años con un 25% y un 16.7% presentaban 40 años de edad.

En relación a los factores de riesgo, Barbara-Montero et al ⁹¹ destacan que en su estudio los factores potenciadores de LPVO como el tabaquismo o la ingesta de alcohol no demostraron tener una influencia evidente ni en la aparición, ni en la progresión de los casos. Sin embargo los autores afirmaron que el consumo de estos carcinógenos fue anecdótico, donde se evidencio que el 85,3% de los individuos eran no fumadores y el 88,2% no bebedores. Esto difiere con lo expuesto en la literatura donde se reconoce el tabaquismo como uno de los principales factores de riesgo de desordenes potenciales y cancerígeno. Además se observó una predominancia del grupo de los pacientes caucasicos y que era más frecuente en mujeres sin hábitos saludables.

En relación al VPH, si bien es cierto que las características clínicas e histológicas de las lesiones del LVPO han implicado al VPH con su patogénesis, sin embargo algunos autores no han podido confirmar esta asociación. Upadhyaya et al ⁹² mencionan que la expresión del VPH de alto riesgo y una expresión de p16INK4A superior al 75% no se detectaron en las lesiones del LPVO analizadas en el estudio. Los autores destacan que los estudios previos que evaluaron la expresión del VPH en LVPO utilizaron técnicas de detección de ADN basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en contraste con la IHQ realizada en el estudio realizado por ellos. Por lo tanto, debido a las diferencias en las técnicas de investigación y en los criterios de interpretación, es difícil comparar los resultados de los distintos estudios y esto puede ayudar a explicar la amplia variación en la detección de los subtipos del VPH. En el presente estudio se utilizó la reacción de PCR para la genotipificación del VPH y se identificaron 4 casos positivos para VPH, basados en dos técnicas específicas de análisis molecular. La hiperqueratosis y acantosis es mencionada por

Capella et al ⁹³ como hallazgos histopatológicos de LVPO, así como un infiltrado linfocítico de interfase dentro de la lámina propia superficial y atrofia con atipia citológica mínima o ausente. Si las lesiones siguen creciendo horizontal y verticalmente, se producen cambios histopatológicos que aumentan la rugosidad de la superficie con aspecto verrucoso, e hiperplasia con o sin displasia epitelial. Las características estructurales en la histopatología están estrechamente asociadas con la progresión a las lesiones avanzadas que pueden desarrollar un patrón de crecimiento exofítico o endofítico mostrando una arquitectura verrucosa, nodular o voluminosa con displasia. En nuestro estudio, el diagnóstico histopatológico más frecuente en las mujeres fue la acantosis en 10 casos, la displasia leve en 9 casos y la ortoqueratosis en 6 casos. La paraqueratosis estuvo presente en la mayoría de los pacientes en una edad menor de 60 años.

Thennavan et al ⁹⁴ enfatizan que una mutación en el oncogen p16 provoca la pérdida de las proteínas supresoras lo que permite que las poblaciones celulares atraviesen un ciclo celular sin control y en última instancia la formación de cáncer. Esta vía de desequilibrio proliferativo-apoptótico puede verse aumentada por la inflamación y la angiogénesis a nivel del microentorno, lo que incrementa el riesgo de transformación maligna. Además afirman que se observó inmunopositividad a p16 en cuatro casos (57,14%) de LVPO, mientras que el caso que se transformó a CCE mostró expresión negativa de p16. Sin embargo, p16 también fue positivo en el CCE primario, esto sugiere que la acumulación de la proteína p16 puede ser un indicador precoz de transformación maligna. En nuestros hallazgos se observó que el 38.9% (n= 7) de la muestra era positiva para la expresión del oncogen p16, 2 de los casos positivos para el oncogen p16 eran de pacientes con diagnóstico clínico presuntivo de carcinoma verrucoso.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue implementada por Vijayan et al ⁹⁵ para examinar y comparar la distribución de genotipos del virus del papiloma humano (VPH) en la

cavidad oral de los pacientes. Utilizaron 20 muestras de tejido en un estabilizador de ADN para la detección del VPH y la tipificación del VPH-16 y el VPH-18 mediante un ensayo de PCR simple convencional. La calidad y la cantidad del ADN se estimaron utilizando el cebador de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) y el espectrofotómetro ultravioleta-visible (UV-VIS), respectivamente. La cantidad de ADN a una densidad óptica de 260/280 se estimó en 1,30-2,10 µg/mL, lo que representa un buen rango de detección. En nuestro estudio se observó que 38.9% (n= 7) de las biopsias realizadas fueron positivas para la expresión del oncogen p16. De las 7 biopsias solo 2 tenían VPH 6, 1 tenía VPH 6,40 y 1 caso de VPH 11 considerados genotipos de VPH de bajo riesgo, en contraposición con los hallazgos de Vijayan et al.⁹⁵

Morandi et al ⁹⁶ demostraron en su estudio la presencia de niveles elevados de algunos marcadores de crecimiento y proliferación tumoral (proteína p53, antígeno Ki-67 , complejo proteico de mantenimiento del minicromosoma (MCM), aberraciones en los genes reguladores del ciclo celular con deleciones, pérdida de heterocigosidad y mutaciones) o diversidad microbiana oral en algunas muestras de LVPO. En otras muestras encontraron la presencia de interleuquina 6, interleuquina 5, interleuquina 1β, factor de crecimiento transformante alfa, genes reguladores del ciclo celular p16INK4a y p14ARF , células endoteliales INSR + cancerosas y ASPN+. Los autores expresan que la inteligencia artificial podría utilizarse a futuro como una herramienta adicional de apoyo al diagnóstico.

Con respecto al análisis inmunohistoquímico, Kharma et al⁹⁷ establecieron que mediante este método se obtuvo una fuerte inmunorreactividad para p53. Un caso de displasia epitelial moderada presentaba una positividad moderada (25-50% de las células). Las demás alteraciones fueron todas negativas o débiles (5-25% de las células). Respecto al Ki-67, todos los casos fueron positivos, sin embargo, sólo un caso fue fuertemente positivo para Ki-67 y correspondió a un CCE. Se pudieron identificar algunas características específicas que

podrían explicar el comportamiento de LVPO: alteraciones en la expresión del factor de crecimiento transformante alfa y p53, presencia del virus de Epstein- Barr y del VPH, alta positividad de MMP-2 y MMP-9, y expresión elevada de Ki-67. Además se observaron aneuploidía en cinco pacientes antes del diagnóstico de carcinoma. Así pues, el estudio del estado de ploidía de la LVPO puede representar una cuestión interesante para predecir su comportamiento, ya que la etiopatogenia sigue siendo controversial.

En la actualidad no existe una modalidad de tratamiento que haya demostrado ser eficaz para el manejo del LVPO, ni para contrarrestar su alta tasa de recurrencia, ni tampoco para frenar su progresión a una lesión maligna. Alshawwa et al ⁹⁸ enfatiza que el tratamiento convencional de la LPV es la extirpación quirúrgica pero esto supone un reto debido a la manifestación multifocal de las lesiones orales. A su vez los autores exponen la importancia del mapeo con biopsias múltiples y frecuentes para detectar las zonas en las que pueden desarrollarse lesiones de alto grado. Incluso en el caso de tomar una biopsia simple, la elección de la zona a extirpar es delicada cuando la lesión es amplia. También sugieren que las lesiones mucosas grandes con displasia de leve a moderada deben tratarse quirúrgicamente. A pesar de las elevadas tasas de recurrencia, la cirugía es inevitable para clasificar histológicamente la enfermedad y detectar su transformación maligna lo antes posible.

Alsoghier et al ⁹⁹ destaca que el láser de diodo ha demostrado tener resultados exitosos como modalidad de tratamiento y la aplicación del mismo como sustituto de las cirugías de tejidos blandos también está ganando cada vez más reconocimiento. Además demostraron que los tratamientos con láser son superiores a los métodos mecánicos convencionales por su capacidad de ablación fácil, descontaminación y mejor hemostasia, así como menos dolor quirúrgico y postoperatorio en el tratamiento de tejidos blandos.

La terapia fotodinámica tópica mediada por ácido 5-aminolevulínico constituye un tratamiento innovador y eficaz para trastornos orales potencialmente malignos y cuenta con el potencial de controlar la recurrencia de lesiones precancerosas y cáncer. Se han empleado varias terapias combinadas para aumentar la eficacia de la terapia fotodinámica tópica mediada por ácido 5-aminolevulínico, especialmente para lesiones grandes, gruesas o muy queratinizadas. Garcia et al ^{100,101} reportaron la evolución clínica de un paciente de 58 años que evidenció una rápida recidiva en el plazo de una semana tras la terapia fotodinámica mediada por ácido 5-aminolevulínico a pesar del tratamiento previo con punción con microagujas, inyección intralesional combinada de ácido 5-aminolevulínico. Se obtuvieron como resultado lesiones sin efectos adversos y sin signos de recidiva en el seguimiento de 10 meses, logrando así ser una opción segura y bien tolerada en pacientes con LVPO. ¹⁰²⁻¹⁰⁴

9. Conclusiones

1. Se concluye que la evaluación de la asociación entre la expresión del oncogen p16 y la progresión de la LVPO a carcinoma oral sugiere que p16 desempeña un papel crucial en la transición de lesiones precoces a estados malignos. La correlación entre la positividad del oncogen p16 y la progresión de la leucoplasia verrucosa proliferativa a carcinoma oral puede servir como un marcador diagnóstico importante y potencialmente mejorar las estrategias de monitoreo y tratamiento en estas condiciones.

2. Determinar la utilidad de la expresión del oncogen p16 como marcador pronóstico para predecir el riesgo de transformación maligna en pacientes con LVPO revela que p16 puede ser un indicador clave en la evaluación del riesgo. La sobreexpresión de p16, a menudo asociada con infecciones por el virus del papiloma humano (VPH), podría correlacionarse con una mayor probabilidad de progresión a carcinoma oral. Esto sugiere que medir los niveles de p16 podría proporcionar una herramienta valiosa para identificar a los pacientes en riesgo elevado, permitiendo una vigilancia más intensiva y estrategias de tratamiento más oportunas.

3. Analizar las correlaciones entre la expresión del oncogen p16 y factores clínicos como el tamaño y la localización de las lesiones de LVPO puede ofrecer perspectivas importantes para el manejo clínico de esta condición. La expresión elevada de p16 podría asociarse con lesiones de mayor tamaño, indicando un riesgo potencialmente mayor de transformación maligna. Además, la localización de las lesiones podría influir en la expresión de p16, dado que áreas específicas podrían estar más expuestas a factores carcinogénicos o tener un microambiente que favorezca la expresión del oncogén. Comprender estas correlaciones puede mejorar la capacidad de predecir la progresión de la enfermedad y adaptar estrategias

de vigilancia y tratamiento, optimizando así el cuidado de los pacientes con leucoplasia verrucosa proliferativa oral.

4. La detección de la expresión del oncogen p16 como herramienta de diagnóstico temprano en LVPO muestra una viabilidad prometedora, particularmente en su capacidad para identificar casos con diferentes genotipos de VPH que pueden asociarse a mayor riesgo de progresión maligna. Al correlacionar la expresión de p16 con factores de riesgo como el tamaño y la localización de las lesiones, así como la exposición a carcinógenos, se puede mejorar la precisión del diagnóstico y la estratificación del riesgo. Sin embargo, para que esta herramienta sea efectiva en la práctica clínica, es fundamental validar su precisión, reproducibilidad y costo-efectividad en estudios adicionales. La integración de esta prueba en el manejo clínico podría permitir intervenciones más tempranas y personalizadas, optimizando el tratamiento y seguimiento de los pacientes.

10. Recomendaciones

1. Entre las principales recomendaciones de este estudio se encuentra reproducirlo pero con un tamaño de muestra, para poder realizar pruebas de hipótesis de independencia entre las variables analizadas.

2. Realizar estudios en cohortes representativas de diferentes regiones y grupos etarios dentro de la República Dominicana para entender mejor la prevalencia y variabilidad de la expresión de p16 y su asociación con factores genéticos y ambientales específicos de la población local.

3. Desarrollar y validar métodos estandarizados para la detección de p16 y la genotipificación que sean accesibles y reproducibles en el contexto local. Asegurarse de que estos métodos sean costo-efectivos para su implementación en entornos clínicos.

4. Implementar estudios longitudinales para monitorear la progresión de las lesiones y correlacionar cambios en la expresión de p16 y los perfiles genotípicos con la evolución clínica de la LVPO, lo que podría mejorar la predicción del riesgo de transformación maligna.

5. Fortalecer la capacitación del odontólogo y distintos especialistas para proporcionar los recursos necesarios para la implementación de pruebas de p16 y genotipificación en clínicas locales, asegurando que los avances en investigación se traduzcan en mejoras prácticas para el manejo de la LVPO.

11. Prospectiva

1. La integración de p16 y análisis genotípico podría permitir un diagnóstico más preciso y temprano de la LVPO. Esto, a su vez, facilitaría la implementación de tratamientos más específicos y personalizados, adaptados a los perfiles genéticos y clínicos individuales, mejorando los resultados para los pacientes.

2. Difundir la importancia de analizar la expresión del oncogen p16 en la LVPO, lo que a su vez influirá en la detección temprana de carcinoma oral. Crear políticas de salud pública sobre la concientización y efectos multiorgánicos del VPH, además de programas de detección temprana, tratamiento y apoyo a la investigación en este campo.

3. La investigación continúa en la expresión de p16 y su relación con la genotipificación podría revelar nuevos biomarcadores y mecanismos moleculares implicados en la progresión de lesiones orales. Esto abriría la puerta a nuevas estrategias terapéuticas y diagnósticas basadas en la biología molecular y genética.

4. El éxito de estas investigaciones contribuirá a fortalecer la infraestructura de salud en la República Dominicana, promoviendo la capacitación del personal odontológico y la inversión en tecnologías avanzadas para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades orales precoces.

12. Referencias bibliográficas

1. Campisi G, Giovannelli L, Ammatuna P, Capra G, Colella G, Di Liberto C, et al. Proliferative verrucous vs conventional leukoplakia: no significantly increased risk of HPV infection. *Oral Oncol.* 2017;40:835–840.
2. Hansen L, Olson J, Silverman S. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 2018;60:285–298.
3. Villa A, Menon R, Kerr A. Proliferative leukoplakia: proposed new clinical diagnostic criteria. *Oral Dis.* 2018;24(1):749–60.
4. Silverman S, Gorsky M. Proliferative verrucous leukoplakia: a follow-up study of 54 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2018;84:154–157.
5. Rao D, Ganesh B, Rao R, Desai P. Risk assessment of tobacco, alcohol and diet in oral cancer - A case-control study. *International Journal of Cancer.* 2019;58(4):469–73.
6. Asokan G, Jeelani S, Gnanasundaram N. Promoter hypermethylation profile of tumour suppressor genes in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(10):9-12.
7. Macleod K. Tumor suppressor genes. *Current opinion in Genetics & Development.* 2017;10(1):81–93.
8. Esteller M, Corn P, Baylin S, Herman J. A Gene Hypermethylation Profile of Human Cancer. *Cancer research.* 2016;61(1):3225–29.

9. Merlo A, Herman J, Mao L, Lee D, Gabrielson E, Burger PC, et al. CpG island Methylation is associated with transcriptional silencing of the tumour suppressor p16/CDKN2/MTS1 in human cancers. *Nat Med.* 2021;11(2):686–92.
10. Herman J, Jen J, Merlo A, Baylin S. Hypermethylation-associated inactivation indicates a tumor suppressor role for p15INKB1. *Cancer Res.* 2019;56(4):722–27.
11. Eversole L. Case 6: proliferative verrucous leukoplakia. *J Calif Dent Assoc.* 2018; 25(8):569-578.
12. Zakrzewska J, Lopes V, Speigth P, Hopper C. Proliferative verrucous leukoplakia: a report of ten cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 2019;8(2):396-401.
13. Bagán J, Jiménez Y, Sanchis J, Poveda R, Milian M, Murillo J, et al. Proliferative verrucous leukoplakia: high incidence of gingival squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2021;3(2):379-382.
14. Palefsky J, Silverman J, Abdel-Salaam M, Daniels T, Greenspan J. Association between proliferative verrucous leukoplakia and infection with human papillomavirus type 16. *J Oral Pathol Med.* 2018;2(4):193-7.
15. Kannan R, Bijur G, Mallery S, Beck F, Sabourin C, Jewll S, et al. Transforming growth factor-alpha overexpression in proliferative verrucous leukoplakia and oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 2019;8(2):69-74.
16. Fettig A, Pogrel A, Silverman S, Bramanti T, Da Costa M, Regezi J. Proliferative verrucous leukoplakia of the gingiva. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2020;9(1):723-730.

17. Napier S, Speight P. Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. *J Oral Pathol Med.* 2018;37(1):1-10
18. Mello F, Miguel A, Dutra K, Porporatti A, Warnakulasuriya S, Guerra E, et al. Prevalence of oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Oral Pathology & Medicine.* 2018;47(7):633-640.
19. Petti S. Pooled estimate of world leukoplakia prevalence: a systematic review. *Oral Oncol.* 2017;39(8):770-80.
20. Amagasa T, Yamashiro M, Uzawa N. Oral premalignant lesions: from a clinical perspective. *Int J Clin Oncol.* 2011;16(1):5-14.
21. Kramer I, Lucas R, Pindborg J, Sobin L. Definition of leukoplakia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 2021;46(4):518-39.
22. Wright J. A review and update of oral precancerous lesions. *Tex Dent J.* 2022;115(6):15-9.
23. Califano J, Westra W, Meininger G, Corio R, Koch W, Sidransky D. Genetic progression and clonal relationship of recurrent premalignant head and neck lesions. *Clin Cancer Res.* 2019;6(2):347-52.
24. Partridge M, Pateromichelakis S, Phillips E, Emilion G, Langdon J. Profiling clonality and progression in multiple premalignant and malignant oral lesions identifies a subgroup of cases with a distinct presentation of squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2021;7(7):1860-6.

25. Petersen P. Oral cancer prevention and control--the approach of the World Health Organization. *Oral Oncol.* 2019;45(4):454-60.
26. Warnakulasuriya S. Oral potentially malignant disorders: A comprehensive review on clinical aspects and management. *Oral Oncol.* 2018;2(3):1045-50.
27. Perdomo S, Buenahora M, Álvarez E, González F, Rebolledo M, Aristizabal F, et al. Human papilloma virus genotypes in dysplasia and epithelial hyperplasia of oral cavity using the luminex xmap technology. A multicenter study. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal.* 2020;25(1):61-70.
28. Burzynski N, Firriolo F, Butters J, Sorrell C. Evaluation of oral cancer screening. *J Cancer Educ.* 2019;12(2):95-9.
29. Bouquot J. Common oral lesions found during a mass screening examination. *J Am Dent Assoc.* 2019;112(1):50-7.
30. Thomson P. Field change and oral cancer: new evidence for widespread carcinogenesis?. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2020;31(3):262-6.
31. Haya M, Bagan J, Murillo J, Poveda R, Calabuig C. The prevalence of oral leukoplakia in 138 patients with oral squamous cell carcinoma. *Oral Dis.* 2020;10(6): 346-8.
32. Yardimci G, Kutlubay Z, Engin B, Tuzun Y. Precancerous lesions of oral mucosa. 2021;2(12):866-72
33. Van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol* 2020;45(4-5):317-323.

34. Wu W, Wang Z, Zhou Z. Role of the human papillomavirus in malignant transformation of oral leukoplakia distinct from oropharyngeal squamous cell carcinoma: A study of 76 patients with internal-control specimens. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2019;128(3):273-9
35. Farah C, Woo S, Zain R, Sklavounou A, McCullough M, Lingen M. Oral cancer and oral potentially malignant disorders. *Int J Dent*. 2018;8(5):34-79.
36. Kharma M, Tarakji B. Current evidence in diagnosis and treatment of proliferative verrucous leukoplakia. *Ann Saudi Med*. 2021;32(4):412–4.
37. Upadhyaya J, Fitzpatrick S, Islam M, Bhattacharyya I, Cohen D. A Retrospective 20-Year Analysis of Proliferative Verrucous Leukoplakia and Its Progression to Malignancy and Association with High-risk Human Papillomavirus. *Head Neck Pathol*. 2018;12(4):500–10.
38. Barret A. The histopathology of proliferative verrucous leukoplakia. *Diagnostic Histopathology*. 2021;27(5):202-207
39. Zendeli L, Popovska M, Atanasovska A, Duvlis S. Human papillomavirus as a potential risk factor for oral premalignant lesions. *Acta Clinica Croatica*. 2017;56(3): 369-74.
40. Golusinski P. Risk Factors for Oral Infection with Human Papillomavirus. *Recent Results Cancer Res*. 2017;2(6):73-85.
41. Bánóczy J, Sugár L. Longitudinal studies in oral leukoplakias. *J Oral Pathol*. 2023;3(2):265–72.
42. McCord C, Xu J, Xu W, Qiu X, McComb RJ, Perez B, et al. Association of high risk human papillomavirus infection with oral epithelial dysplasia. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology and Oral Radiology*. 2023;115(4):541-549.

43. Bradley K, Budnick S, Logani S. Immunohistochemical detection of p16INK4a in dysplastic lesions of the oral cavity. *Mod Pathol*. 2017;19(10):1310-16.
44. Wenyan K, Wu S. Role of the human papillomavirus in malignant transformation of oral leukoplakia distinct from oropharyngeal squamous cell carcinoma: A study of 76 patients with internal-control specimens. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology and Oral Radiology*. 2019;128(3):273-279
45. Garnis C, Chari R, Buys T, Zhang L, Ng R, Rosin M, et al. Genomic imbalances in precancerous tissues signal oral cancer risk. *Molecular cancer J*. 2019;8(1):50-8.
46. Ögmundsdóttir H, Björnsson J, Holbrook W. Role of TP53 in the progression of pre-malignant and malignant oral mucosal lesions. A follow-up study of 144 patients. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2019;38(7):565-571
47. Speight P, Khurram S, Kujan O. Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology and Oral Radiology*. 2018;125(6):612-627.
48. Jayaprakash V, Reid M, Hatton E. Human papillomavirus types 16 and 18 in epithelial dysplasia of oral cavity and oropharynx: a meta-analysis, 1985-2010. *Oral Oncol*. 2021;47(11):1048-54.
49. Yang L, Xiao X, Li C. Human papillomavirus genotypes and p16 expression in oral leukoplakia and squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019;12(3):1022-28.
50. Campisi L, Giovannelli P, Ammatuna G, Capra G, Colella C, Di Liberto K, et al. Proliferative verrucous vs conventional leukoplakia: no significantly increased risk of HPV infection. *Oral Oncol*. 2018;2(6):835-840

51. Hansen L, Olson S, Silverman U. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 2021;7(5):285-298
52. Grinspan D, Abulafia J. Oral florid papillomatosis (verrucous carcinoma). *Int J Dermatol*. 2020;18(4):608-22
53. Silverman S, Gorsky M. Proliferative verrucous leukoplakia: a follow-up study of 54 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2019;8(4):154-157
54. Ghazali N, Bakri M, Zain R. Aggressive, multifocal oral verrucous leukoplakia: proliferative verrucous leukoplakia or not? *J Oral Pathol Med*. 2023;3(2):383-92
55. Morton T, Cabay R, Epstein J. Proliferative verrucous leukoplakia and its progression to oral carcinoma: report of three cases. *J Oral Pathol Med*. 2017;3(6):315-318
56. Pitiyage G, Tilakaratne W, Tavassoli M, Warnakulasuriya S. Molecular markers in oral epithelial dysplasia: review. *J Oral Pathol Med*. 2009;38(1):737-752
57. Rubert A, Bagán L, Bagán J. Oral leukoplakia, a clinical-histopathological study in 412 patients. *J Clin Exp Dent*. 2020;12(6):540-6.
58. Dehn D, Torkko K, Shroyer K. Human Papillomavirus Testing and Molecular Markers of Cervical Dysplasia and Carcinoma. *Cancer (Cancer cytopathology)*. 2007. 111(1).
59. González M, Irigoyen V, Ramírez M, Lizano A, Carrillo A, et al. Association between age and high-risk human papilloma virus in Mexican oral cancer patients. *Oral diseases*. 2013;19(8):796-804.
60. von Knebel Doeberitz M, Reuschenbach M, Schmidt D, Bergeron C. Biomarkers for cervical cancer screening: the role of p16(INK4a) to highlight transforming HPV infections. *Expert Rev Proteomics*. 2012;9(2):149-63.

61. Lajer C, von Buchwald C. The role of human papillomavirus in head and neck cancer. *APMIS*. 2010;118(6-7):510-9.
62. Chaudhary A, Singh M, Sundaram S, Mehrotra R. Role of human papillomavirus and its detection in potentially malignant and malignant head and neck lesions: updated review. *Head Neck Oncol*. 2009;25;1(22).
63. Fawzy M, Nofal A, El-Hawary E. Proliferative verrucous leukoplakia. *Indian Journal of Dermatology Venereology and Leprology*. 2021;3(2):23-36.
64. Kumari P, Debta P, Dixit A. Oral Potentially Malignant Disorders: Etiology, Pathogenesis, and Transformation Into Oral Cancer. *Front Pharmacol*. 2022;13(8):252-66.
65. Palefsky J, Silverman S, Abdel-Salaam M, Daniels T, Greenspan J. Association between proliferative verrucous leukoplakia and infection with human papillomavirus type 16. *J Oral Pathol Med*. 1995;24(5):193-7.
66. Saghraivanian N, Ghazi N, Meshkat Z, Mohtasham N. Human Papillomavirus in Oral Leukoplakia, Verrucous Carcinoma, Squamous Cell Carcinoma, and Normal Mucous Membrane. *Oman Med J*. 2015;30(6):455-60.
67. Del Pino M, Bleeker M, Quint W. Comprehensive analysis of human papillomavirus prevalence and the potential role of low-risk types in verrucous carcinoma. *Mod Pathol*. 2012;25(1):1354–1363.
68. De Roda Husman AM, Walboomers JM, van den Brule AJ, Meijer CJ, Snijders PJ. The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *J Gen Virol*. 1995;76:1057-1062.

69. Rietbergen MM, Snijders PJ, Beekzada D, et al. Molecular characterization of p16-immunopositive but HPV DNA-negative oropharyngeal carcinomas. *Int J Cancer*. 2014;134:2366-2372.
70. Motta Rda R, Zettler CG, Cambruzzi E, Jotz GP, Berni RB. Ki-67 and p53 correlation prognostic value in squamous cell carcinomas of the oral cavity and tongue. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2009;75:544-549.
71. Fakhry C, Rosenthal BT, Clark DP, Gillison ML. Associations between oral HPV16 infection and cytopathology; evaluation of an oropharyngeal „pap-test equivalent“ in high-risk populations. *Cancer Prev Res. (Phila)*. 2011;4:1378-1384.
72. Remmerbach TW, Meyer-Erbrecht D, Aach T, et al. Toward a multimodal cell analysis of brush biopsies for the early detection of oral cancer. *Cancer Cytopathol*. 2009;117:228-235.
73. Prigge ES, Toth C, Dyckhoff G, et al. P16INK4a/Ki67 coexpression specifically identifies transformed cells in the head and neck region. *Int J Cancer*. 2014
74. Gante J, Dubuc A, Laurencin-Dalicioux S, Cousty S. Proliferative Verrucous Leukoplakia: An Update. *Austin J Dermatolog*. 2023; 10(2): 1109.
75. Zappacosta R, Colasante A, Viola P, et al. Chromogenic in situ hybridization and p16/Ki67 dual staining on formalin-fixed paraffin-embedded cervical specimens: correlation with HPV-DNA test, E6/E7 mRNA test, and potential clinical applications. *Biomed Res Int*. 2013;2013:453606.
76. Bombeccari GP, Garagiola U, Candotto V, et al. Diode laser surgery in the treatment of oral proliferative verrucous leukoplakia associated with HPV-16 infection. *Maxillofac Plast Reconstr Surg*. 2018;40(1):16.

77. Giri D, Agarwal N, Sinha A, Srivastava S, Mishra A. Diode laser: In treatment of recurrent verrucous leukoplakia. *Contemp Clin Dent*. 2016;7(2):250-254.
78. Wang F, Shi Y, Dong Y, et al. Photodynamic therapy combined with laser drilling successfully prevents the recurrence of refractory oral proliferative verrucous leukoplakia. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2021;36:102564.
79. Munde A, Karle R. Proliferative verrucous leukoplakia: An update. *J Can Res Ther* 2016;12:469-73.
80. Romeo U, Russo N, Palaia G, Tenore G, Del Vecchio A. Oral proliferative verrucous leukoplakia treated with the photodynamic therapy: a case report. *Annali di Stomatologia* 2014;3(2):77-80.
81. Müller S. Update from the 4th Edition of the World Health Organization of Head and Neck Tumours: Tumours of the Oral Cavity and Mobile Tongue. *Head and Neck Pathol*. 2017;11:33–40.
82. Sook-Bin Woo. Oral Epithelial Dysplasia and Premalignancy. *Head and Neck Pathology*. 2019;13:423–439.
83. Muller S, W Tilakaratne. Update from the 5th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumors: Tumours of the Oral Cavity and Mobile Tongue. *Head and Neck Pathology*. 2022;16:54–62.
84. Richards R, Agarwal S. Atypical Squamous Verrucous Lesions of the Oral Cavity: Challenges in Interpretation of Small Incisional Biopsies. *Head and Neck Pathology*. 2023;17:607–617.

85. Okoturo E, Green D, Liloglou T, Boyd M, Shaw R, Risk J. Whole genome DNA methylation and mutational profiles identify novel changes in proliferative verrucous leukoplakia. *2023;135(6):493-504.*
86. Thompson L, Fitzpatrick S, Müller S, Eisenberg E, Upadhyaya J, Lingen M, et al. Proliferative Verrucous Leukoplakia: An Expert Consensus Guideline for Standardized Assessment and Reporting. *Head and Neck Pathology. 2021;15:572–587.*
87. Torrejon-Moya A, Jané-Salas E, López-López J. Clinical manifestations of oral proliferative verrucous leukoplakia: A systematic review. *J Oral Pathol Med. 2020 May;49(5):404-408. doi: 10.1111/jop.12999. Epub 2020 Feb 9. PMID: 31990082.*
88. Pentenero M, Castagnola P, Castillo F, Isaevska E, Sutera S, Gandolfo S. Predictors of malignant transformation in oral leukoplakia and proliferative verrucous leukoplakia: An observational prospective study including the DNA ploidy status. *Head & Neck. 2023;2(4):1-16.*
89. Palaia G, Bellisario A, Pampena R, Pippi R, Romeo, U. Oral Proliferative Verrucous Leukoplakia: Progression to Malignancy and Clinical Implications. Systematic Review and Meta-Analysis *Cancers. 2021;13(4):8-15.*
90. Zhang C, Lan Q, Wei P, Gao Y, Zhang J, Hua H. Clinical, histopathological characteristics and malignant transformation of proliferative verrucous leukoplakia with 36 patients: a retrospective longitudinal study. *BMC Oral Health. 2024;24(1):639.*
91. Barba-Montero C, Lorenzo-Pouso AI, Gándara-Vila P, et al. Lichenoid areas may arise in early stages of proliferative verrucous leukoplakia: A long-term study of 34 patients. *J Oral Pathol Med. 2022;51(6):573-581.*

92. Upadhyaya J, Fitzpatrick S, Islam M, Bhattacharyya I, Cohen D. A Retrospective 20-Year Analysis of Proliferative Verrucous Leukoplakia and Its Progression to Malignancy and Association with High-risk Human Papillomavirus. *Head Neck Pathol.* 2018;12(4):500–10.
93. Capella D, Gonçalves J, Abrantes A, Grando L, Daniel F. Proliferative verrucous leukoplakia: diagnosis, management and current advances. *Braz J Otorhinolaryngology.* 2017;83(5):585-593.
94. Thennavan A, Byatnal AA, Solomon MC, Radhakrishnan RA. The role of Ki-67, p16, CD34, Bcl-2, cyclooxygenase-2 in the pathogenesis of proliferative verrucous leukoplakia. *Indian J Cancer.* 2015;52(4):498-502. doi:10.4103/0019-509X.178424
95. Vijayan AK, Muthukrishnan A, Nair AM, Fathima S, Nair PV, Roshan J. PCR-based Evaluation of Human Papillomavirus Genotypes in Oral Lichen Planus. *J Pharm Bioallied Sci.* 2022;14(Suppl 1):S449-S453.
96. Morandi L, Gissi D, Tarsitano A, Asioli S, Gabusi A, Marchetti C, et al. CpG location and methylation level are crucial factors for the early detection of oral squamous cell carcinoma in brushing samples using bisulfite sequencing of a 13-gene panel. Morandi et al. *Clinical Epigenetics.* 2017;9:85.
97. Kharma M, Tarakjib B. Current Evidence in Diagnosis and Treatment of Proliferative Verrucous Leukoplakia. *Ann Saudi Med* 2012; 32(4): 412-414.
98. Alshawwa S, Saleh A, Hasan M, Shah M. Retracted: Segmentation of Oral Leukoplakia (OL) and Proliferative Verrucous Leukoplakia (PVL) Using Artificial Intelligence Techniques. *Hindawi BioMed Research International.* 2022;2(6):1-11.

99. Alsoghier A, AlBagieh H, AlSahman L, Alshagroud R, AlSahman R. Proliferative verrucous/multifocal leukoplakia Updates and literature review “case report”. *Medicine*. 2023;2(2):2-12.
100. Garcia M, Pendás S, Garcia M, Martin J. The development of proliferative verrucous leukoplakia in oral lichen planus. A preliminary study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2016;21(3):328-34.
101. 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 Diseases*. 2021;27:848–880.
102. Lopes M, Feio P, Santos-Silva A, Vargas P. Proliferative verrucous leukoplakia may initially mimic lichenoid reactions. *World J Clin Cases*. 2015;16;3(10): 861-863.
103. González M, Warnakulasuriya S, Ramos P. Prognosis Parameters of Oral Carcinomas Developed in Proliferative Verrucous Leukoplakia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers*. 2021;13(4):84-93.
104. Ghosh S, Rao R, Upadhyay M, Kumari K, Sanketh D, Raj A, et al; Revisited: A Retrospective Clinicopathological Study. *Clin Pract*. 2021;11(2):337–346.