



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOPATOLOGÍA

**FRECUENCIA DE CAMBIOS CITOLÓGICOS
POTENCIALMENTE MALIGNOS EN PACIENTES CON
MUCOSA BUCAL CLÍNICAMENTE SANA EN EL
AMBULATORIO EL LLANO DEL EDO. MÉRIDA.**

Trabajo Especial de Grado para optar al título de Odontólogo

Autores: Yina Karime Briceño Ibraim

Xiomara Rafaela Rodríguez Valera

Tutor: Eduvigis Solórzano

Cotutor: Alejandro Pereira

Mérida – Venezuela, Octubre 2019

DEDICATORIA

A Dios y a nuestros padres.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

A la ilustre Universidad de Los Andes y Facultad de Odontología por darnos la oportunidad de crecer académicamente.

A la Dra. Eduvigis Solórzano nuestra tutora, por su dedicación y dirección en la elaboración de este trabajo. Gracias.

Al Dr. Alejandro Pereira nuestro cotutor por su valiosa asesoría y ayuda para alcanzar los objetivos de esta tesis.

Al Lic. Elix Izarra por su valiosa e incondicional colaboración, y asesoría en la elaboración de este trabajo.

Al Prof. Damian Cloquell por sus críticas siempre constructivas en pro del mejoramiento de este trabajo.

Al Servicio de Anatomía Patológica del IHULA por toda la colaboración prestada.

Al Servicio de Odontología del Ambulatorio el Llano por su receptividad para la realización de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1 Objetivos de la investigación	5
1.1.1 Objetivo general.....	5
1.1.2 Objetivos específicos.....	5
1.2 Justificación.....	6
CAPÍTULO II	8
MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 Antecedentes	8
2.2 Bases conceptuales.....	32
2.2.1 La Célula.....	32
2.2.2 Mucosa bucal.....	35
2.2.3 Estructura morfológica de la mucosa bucal	39
2.2.4 Factores de riesgo a cambios celulares	40
2.2.5 Lesiones Potencialmente Malignas de la cavidad bucal	43
2.2.6 Cáncer bucal	46
2.2.7 Azul de toluidina.....	49
2.2.8 Citología.....	49
CAPÍTULO III.....	54
MARCO METODOLÓGICO.....	54
3.1 Alcance y diseño de investigación.....	54
3.1.1 Alcance de investigación.....	54

3.1.2	Diseño de investigación.....	54
3.2	Población y muestra.....	55
3.2.1	Población.....	55
3.3	Variables.....	55
3.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	56
3.5	Equipos e instrumentos.....	56
3.6	Procedimiento.....	57
3.6.1	Fase I: Calibración.....	57
3.6.2	Fase II: Selección de los pacientes.....	57
3.6.3	Fase III: Aplicación del protocolo.....	58
3.6.4	Fase IV: Procesamiento y análisis de la muestra.....	58
3.7	Principios bioéticos.....	59
3.8	Análisis de resultados.....	60
CAPÍTULO IV.....		61
RESULTADOS.....		61
4.1	Presentación de los resultados.....	61
CAPÍTULO V.....		70
DISCUSIÓN.....		70
CAPÍTULO VI.....		75
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		75
5.1	Conclusiones.....	75
5.2	Recomendaciones.....	76
REFERENCIAS.....		77
APÉNDICES.....		92
Apéndice A	92
Apéndice B:	94
Apéndice C:	94

Apéndice D:	95
Apéndice E:	95
Apéndice F	96
Apéndice G:	96
Apéndice H	97
Apéndice I:	97
Apéndice J.....	98
ANEXOS	99
Anexo 1	99
Anexo 2	100
Anexo 3	102

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Resultados de la citología exfoliativa, clasificación de Papanicolau.	62
Tabla 2.	Cambios citológicos con respecto al sexo.	62
Tabla 3.	Cambios citológicos con respecto al grupo etario.	63
Tabla 4.	Cambios citológicos con respecto al consumo de cigarrillo.	64
Tabla 5.	Cambios citológicos con respecto al consumo de chimó.	64
Tabla 6.	Cambios citológicos con respecto al consumo de alcohol.	65
Tabla 7.	Cambios citológicos con respecto al consumo de bebidas calientes.	65
Tabla 8.	Cambios citológicos con respecto al consumo de alimentos picantes.	66
Tabla 9.	Frecuencia del consumo de cigarrillo relacionado a los cambios citológicos.	67
Tabla 10.	Frecuencia del consumo de chimo relacionado a los cambios citológicos.	67
Tabla 11.	Frecuencia del consumo de alcohol relacionado con los cambios citológicos.	68
Tabla 12.	Frecuencia del consumo de bebidas calientes con relación a los cambios citológicos.	68
Tabla 13.	Frecuencia del consumo de alimentos picantes con relación a los cambios citológicos.	69



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOPATOLOGÍA

FRECUENCIA DE CAMBIOS CITOLÓGICOS POTENCIALMENTE MALIGNOS EN PACIENTES CON MUCOSA BUCAL CLÍNICAMENTE SANA EN EL AMBULATORIO EL LLANO DEL EDO. MÉRIDA*

Trabajo Especial de Grado para optar al título de Odontólogo

Autores: Yina Karime Briceño Ibraim
Xiomara Rafaela Rodríguez Valera
Tutor: Eduvigis Solórzano
Cotutor: Alejandro Pereira
Mérida – Venezuela, Octubre 2019

RESUMEN

La cavidad bucal es una estructura con un tejido altamente vulnerable a cambios y alteraciones, no solo por factores biológicos, propios del ser humano, sino también por factores externos que modifican la organización y morfología. Clínicamente, en una consulta, los odontólogos son capaces de observar tejidos, a través del examen clínico detallado, sin embargo, los cambios a nivel celular no necesariamente se evidencian clínicamente, y de allí la importancia de usar protocolos que ayuden al diagnóstico temprano de células potencialmente malignas como el azul de toluidina y la citología bucal. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de cambios citológicos potencialmente malignos en pacientes con mucosa bucal clínicamente sana en el ambulatorio El Llano del estado Mérida. **Metodología:** El alcance de investigación fue descriptivo y el diseño observacional, descriptivo de corte transversal. La población estuvo representada por 80 pacientes adultos sanos que acudieron a consulta odontológica, durante el periodo de Mayo a Agosto del año 2018, con mucosa bucal clínicamente sana. **Resultados:** El 11% de la población presentó signos de reacción inflamatoria, entre ellos un caso presentó displasia. **Conclusión:** No se encontró una relación estadísticamente significativa entre los cambios citológicos y los factores de riesgos estudiados.

Palabras Clave: citología exfoliativa, azul de toluidina, mucosa bucal, lesiones premalignas, cáncer bucal.

INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal es una estructura con un tejido altamente vulnerable a cambios y alteraciones, no solo por factores biológicos, propios del ser humano, sino también por factores externos que modifican la organización y morfología celular. Dentro de los factores de riesgo podemos nombrar: la edad, personas adultas tienen mayor riesgo de tener cambios en su mucosa; la alimentación, alimentos muy calientes y/o picantes; prótesis y aparatología bucal, ya que generan un trauma constante sobre la mucosa; la procedencia de las personas, ciertas características ambientales de la zona pueden generar cambios en la mucosa bucal; consumo de alcohol; hábitos tabáquicos entre otros.

Por ello, conviene señalar que la célula es la unidad morfológica y funcional fundamental de todo ser vivo, cualquier transformación, en ella, implica un cambio en el tejido que conforma. De allí la importancia de tomar especial atención a su desarrollo y comportamiento. Clínicamente, en una consulta, los odontólogos son capaces de observar tejidos, y según sus características macroscópicas generar un criterio de normalidad o patología. Para el diagnóstico existen varias técnicas de exploración clínica que pueden ser usadas por el odontólogo en el sillón dental: exploración clínica estructurada, la cual implica una serie de pasos secuenciales para examinar la cavidad bucal, que puede ser o no asistida por sistemas de detección de luz que ayudará a una mejor observación de las estructuras. Sin embargo, un cambio temprano a nivel citológico, inicialmente, pudiese no mostrar característica macroscópicamente detectable.

Existen protocolos para aumentar la proyección macroscópica de alteraciones celulares en el examen clínico como las coloraciones. El azul de toluidina es una coloración acidófila que actúa de manera hipercaptante sobre los núcleos celulares con alto contenido de ADN, por lo que una coloración positiva sería indicativa de una posible alteración celular. Así mismo, en relación con la evaluación de cavidad bucal aún más detallada tenemos el uso de la citología bucal, la más usada es la exfoliativa, la cual, consiste en un estudio e interpretación de las células que se descaman en la mucosa bucal a través de una técnica de arrastre con el uso de instrumentos como el

cepillo especial para citología, llamado *citobrush*. La citología exfoliativa es un método sencillo, indoloro, económico y aporta información útil para el clínico. Queda claro que la biopsia también es utilizada para el examen celular pero su indicación es para lesiones sospechosas presentes en mucosa, que ameriten un examen más profundo.

El diagnóstico temprano y oportuno de lesiones en cavidad bucal no es solo responsabilidad del especialista en el área, también lo es del odontólogo general, quien tiene fácil acceso visual a las estructuras blandas de la cavidad bucal. No obstante, aun teniendo las herramientas necesarias, la mayoría son excluidas de la consulta clínica de rutina, lo cual trae como consecuencia que muchas lesiones premalignas y malignas sean diagnosticadas ya en estadios avanzados. De allí surge la necesidad de concientizar y fomentar el uso de métodos para el diagnóstico precoz, por parte del odontólogo general.

Por esta razón, se realiza la presente investigación con la finalidad de destacar la importancia del uso de protocolos y métodos de diagnóstico en conjunto: examen clínico, tinción con azul de toluidina y uso de citología exfoliativa, en mucosa bucal clínicamente sana, como métodos de detección temprana de cambios citológicos potencialmente malignos, así como también para relacionarlo con los factores de riesgo relacionados con el paciente. De esta manera aportar conocimiento a la comunidad odontológica para que se promueva su uso en la consulta odontológica de rutina.

Debido a la importancia de lo planteado se desarrolla este trabajo de investigación que se presenta en cuatro capítulos. El capítulo I corresponde al planteamiento del problema, objetivo general de la investigación, objetivos específicos y la justificación de la misma. El capítulo II hace referencia a los antecedentes de la investigación y las bases teóricas conceptuales que sustentan la investigación. El capítulo III donde se describe la metodología de la investigación, el tipo y diseño del estudio, sistema de variables, técnica e instrumento de recolección de datos, los aspectos bioéticos, el análisis de los resultados. El capítulo IV describe

los resultados, discusión con otros autores, conclusiones y referencias bibliográficas consultadas.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mucosa bucal clínicamente saludable es aquella que conserva las características propias de cada región (revestimiento, especializada, masticatoria) con buena humedad y en ausencia de lesiones primarias y/o secundarias¹. La mucosa bucal con alteraciones celulares puede estar dada por diversos factores como son edad, género², etnia³, tabaco⁴⁻⁸, consumo de alcohol, y consumo de ciertos alimentos (caliente y picante)⁹⁻¹⁴.

Se ha demostrado la presencia de alteraciones celulares mediante microscopio en mucosa clínicamente sana^{15,16}. Toda patología comienza a nivel celular presentando cambios morfológicos o funcionales¹⁷. Por ello, es importante tener en cuenta un examen clínico de rutina para la detección del cáncer o alguna condición precursora de cáncer, requiere asesoría y educación a los pacientes sobre los factores de riesgo asociados a la aparición de la enfermedad¹⁸. Los motivos por los cuales se retrasa el diagnóstico de los pacientes con neoplasias en cavidad oral son diversos, algunos atribuibles al paciente como una inadecuada cultura de prevención y revisiones periódicas aunado a factores socioeconómicos. Otros atribuibles a los servicios de salud, y finalmente factores asociados con el clínico, estos se deben básicamente a no realizar un examen completo y minucioso de cavidad bucal, a un índice bajo de sospecha o falta de experticia y conocimiento¹⁹. Entre el 30 y el 50% de los cánceres se pueden evitar si son detectados a tiempo y si se tratan adecuadamente, las posibilidades de recuperación para muchos tipos de cáncer son excelentes^{20,21}.

El cáncer oral es la neoplasia maligna más frecuente en la región de cabeza y cuello, siendo la mayoría carcinomas de células escamosas⁶. Una parte significativa de los carcinomas orales de células escamosas se desarrollan a partir de lesiones potencialmente malignizables. Entre ellas podemos nombrar a la leucoplasia^{22,23,24},

eritroplasia²⁵, estomatitis nicotínica, fibrosis submucosa, queilitis actínica, lupus eritematoso y liquen plano¹⁶. Así también, otra parte de ellos surge a partir de mucosa clínicamente normal²⁶ en donde se desarrolla a partir de signos microscópicos que tienen una connotación premaligna como la displasia oral epitelial²⁵, y/o transformación del tipo de queratinización del epitelio²⁷.

En un reporte realizado a nivel mundial, se estimó que la incidencia del cáncer oral para el 2018 para el género masculino era de un 5.8% y para el género femenino era de un 2.3 %, ubicándose en la posición 15ta con respecto a los canceres del cuerpo humano²⁸. Otro reporte realizado en Estados Unidos mostró que por cada 100.000 habitantes, se habían presentado 12 casos de cáncer oral²⁹. En Colombia en el Instituto Nacional de Cancerología se presentan anualmente entre 100 y 120 nuevos casos de cáncer oral^{13,14}. Finalmente, En Venezuela según datos del 2012 se registraron 608 casos de cáncer a nivel de lengua, cavidad bucal, orofaringe y labio³⁰.

Todos estos aspectos nos indican la importancia que tiene el descubrir y desarrollar nuevos métodos diagnósticos tempranos, así como mejorar los ya conocidos y buscar también dianas terapéuticas para la enfermedad neoplásica oral. Es importante que las metodologías sean sencillas, poco cruentas y fiables, y que nos permitan realizar un diagnóstico y seguimiento satisfactorios en los pacientes con lesiones potencialmente malignas y cancerosas orales^{6,17,31}. En lo que respecta, se han introducido varios métodos para ayudar en la detección de cambios tempranos de la mucosa oral. Entre ellos los que se utilizan para la evaluación clínica a nivel macroscópica: tinción con azul de toluidina^{11,14,32}, sistemas de detección a través de luz blanca³², incandescente³³, fluorescente, multi-espectral con tres longitudes de onda de color distintas (blanco, violeta, ámbar)³⁴; para evaluación a nivel celular: evaluación del ADN celular³⁵, la citología en base líquida y la citología exfoliativa^{11,36-40}.

El azul de toluidina⁴¹ es un colorante acidófilico y metacromático que pertenece al grupo de las tiacidas. Su característica principal es que tiñe selectivamente componentes ácidos de los tejidos, tales como sulfatos y radicales fosfatos incorporados en el ADN y ARN de las células. Por ello, se utiliza para hacer tinciones

nucleares "in vivo" basado en que las células displásicas y anaplásicas contienen cuantitativamente mayor cantidad de ácidos nucleicos y por tanto retienen la tinción. La tinción del tejido vital ha sido identificada como un complemento para el reconocimiento precoz de las lesiones malignas, así como para ayudar a seleccionar y delimitar los límites de las biopsias³⁵. La sensibilidad de la prueba es alta y como inconvenientes se han señalado los falsos positivos que puede generar⁴¹. Por otro lado ha sido señalado que el azul de toluidina manejado por expertos y especialistas en el área detectan no sólo la totalidad de las displasias de alto grado, sino también displasias mínimas o nulas con atributos clínicos y moleculares de alto riesgo⁴².

La citología exfoliativa oral es uno de los métodos de detección precoz con mayor índice de sensibilidad y especificidad según una revisión en Cochrane⁴³. Este medio diagnóstico estudia e interpreta los caracteres de las células que se descaman, natural o artificialmente, de la mucosa oral^{17,18,44}. Revela alteraciones morfofisiológicas en las células epiteliales, tales como cambios en el tamaño nuclear y aspecto sucio del preparado, los cuales ayudan a un diagnóstico presuntivo². Es considerado un método para detectar lesiones malignas y premalignas⁴⁵. La falta de éxito de esta prueba tiene que ver con falta de conocimiento⁴⁶ con respecto a la prueba.

El diagnóstico citológico no debe considerarse como definitivo, en la mayoría de los casos indica determinada patología, la cual deberá ser comprobada histológicamente a través de un método invasivo como la biopsia^{44,47}. La citología no pretende competir con la histopatología (toma de biopsias), que en definitiva arrojará el diagnóstico de certeza⁴⁸; por el contrario ambas técnicas se complementan^{43,44,49}.

En el mismo orden de ideas, el uso de la citología exfoliativa como método de diagnóstico en tejido bucal con algún signo clínico ha sido ampliamente estudiado para determinar lesiones premalignas^{47,50,51} y malignas^{18,34,37,38,43,45,52,53,54}, también se consiguieron estudios que utilizan la citología exfoliativa como método comparativo entre pacientes sanos y pacientes con condición de inmunosupresión³⁹, y con fibrosis submucosa⁴⁹.

Así mismo se han realizado investigaciones donde a partir de citología exfoliativa se han detectado cambios citológicos en mucosa clínicamente sana de fumadores y no fumadores con el fin de evaluar efectividad de la técnica⁵⁵, utilizando *citobrush* para la toma de muestra de calidad⁵⁶, y realizado en conjunto la tinción con azul de toluidina que mejora las características celulares a evaluar en el examen⁵⁷.

Es oportuno destacar que en la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida- Venezuela, se realizó un estudio para

sin evidencia clínica con la toma de muestra a 59 pacientes que acudieron a la clínica integral del adulto de abril a mayo de 2007 mostrando cambios celulares en 37.7% de los casos⁵⁸.

Sin embargo, no se han encontrado estudios epidemiológicos que demuestren la frecuencia de cambios celulares de pacientes con mucosa bucal clínicamente sana en el estado Mérida-Venezuela, siendo el ambulatorio El Llano uno de los más grandes del municipio Libertador, en el estado Mérida, surge la siguiente interrogante ¿Cuál es la frecuencia de los cambios celulares en la cavidad bucal de pacientes con mucosa clínicamente sana que asisten a consulta odontológica en El Ambulatorio El Llano Mérida - Venezuela.

1.1 Objetivos de la investigación

1.1.1 Objetivo general

- Determinar la frecuencia de cambios citológicos potencialmente malignos en pacientes con mucosa bucal clínicamente sana en el ambulatorio el Llano del Estado Mérida – Venezuela.

1.1.2 Objetivos específicos

- Identificar los hallazgos citológicos de las muestras de mucosa bucal clínicamente sana de los pacientes.
- Establecer la frecuencia de los cambios citológicos potencialmente malignos con respecto a los factores de riesgo.

- Relacionar la frecuencia de consumo de los factores de riesgos asociados a los cambios citológicos potencialmente malignos.

1.2 Justificación

La cavidad bucal es una zona de fácil exploración clínica⁴¹, por lo que no se justifican diagnósticos en estadios avanzados, de cáncer bucal. Si bien, existe una progresión en los cambios microscópicos antes que puedan evidenciarse cambios macroscópicos en los tejidos bucales^{57,59}, el diagnóstico de lesiones potencialmente malignizables y cáncer oral es tarea del odontólogo^{14,44}. Por esto, el manejo de las técnicas de diagnóstico precoz se hace indispensable para su apoyo, en este caso la combinación de técnicas y protocolos como la exploración clínica, tinción de azul de toluidina y toma de muestra citológica. Un estudio epidemiológico, realizado en Paraná-Brasil⁶⁰ con pacientes ancianos, reconoce la importancia de la exploración clínica activa, como método de diagnóstico precoz, que reafirma la importancia de estos métodos básicos. Así mismo, a pesar de algunas discrepancias prevalece el uso de protocolo de enjuagues con azul de toluidina como colorante para diagnóstico de displasias y anaplasias, con altos índices de sensibilidad y valor predictivo negativo para el diagnóstico de dichas alteraciones celulares^{41,61}.

Por otra parte, según un estudio realizado en la ciudad de Goias-Brasil⁶², se llegó a la conclusión de que los odontólogos tenían poco conocimiento de la citología exfoliativa realizada en cavidad bucal como técnica de diagnóstico presuntivo. Aunado a esto, otro estudio¹⁷ de similar característica concluyeron que la citología exfoliativa es una técnica poco usada por los profesores de la Facultad de Odontología de la Universidad de los Andes, Mérida - Venezuela; lo que sería indicativo que la formación de los estudiantes en el uso de la misma será similar. De allí la importancia de realizar un estudio epidemiológico aplicando la combinación de técnicas para diagnóstico precoz en uno de los ambulatorios con mayor afluencia de pacientes a nivel de consulta odontológica del estado Mérida, para determinar la frecuencia de los cambios citológicos potencialmente malignos en pacientes con mucosa bucal clínicamente sana, y así resaltar la importancia de implementar el

examen clínico, protocolo de azul de toluidina y el uso de citología exfoliativa bucal como métodos de despistaje de cambios tempranos en el tejido bucal, y que en un futuro este trabajo sirva como punto de partida para estandarizar un protocolo de diagnóstico precoz en la consulta odontológica diaria.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

En este estudio se consideran los aspectos teóricos fundamentales que guardan relación con la siguiente investigación. A continuación, se citan algunas investigaciones en orden temático y cronológico ascendente, iniciando con estudios con la metodología de referencia para nuestra investigación, seguido de estudios epidemiológicos de cambios citológicos en pacientes con mucosa clínicamente sana, luego investigaciones que estudian los cambios citológicos en mucosa clínicamente sana, seguidamente estudios donde la mucosa sana representa un grupo control en el experimento, posteriormente estudios donde la mucosa es expuesta a algún agente etiológico de cambios citológicos y finalmente el uso de otros medios diagnósticos de lesiones potencialmente malignas de la mucosa bucal.

La revisión de la literatura reportada ha permitido deducir que los protocolos para la toma de muestras citológicas en pacientes con mucosa sana no están estandarizados, sin embargo, las metodologías descritas en este capítulo mostraron efectividad y congruencia en contraposición con las limitaciones mostradas por otros autores, por lo que en la presente investigación se tomará en cuenta estos parámetros:

Komali et al.⁶³ realizaron un estudio experimental, en el 2012, con la finalidad de evaluar los cambios citológicos en fumadores y no fumadores antes y después de la aplicación de azul de toluidina. Para la investigación tomaron una muestra de 50 individuos, 25 en cada grupo; como criterios de inclusión tomaron en cuenta individuos sistémicamente sanos con mucosa bucal clínicamente sana. Primero se les indicaba a las personas enjuagarse la boca con agua, posteriormente se tomaron dos

muestras de raspado de mucosa bucal de cada individuo con *citobrush*: una antes de aplicar el protocolo de tinción con azul de toluidina y otra luego del protocolo, que consistía en enjuagar la boca con ácido acético el 1% por 30 segundos, posterior enjuague de azul de toluidina al 1% por 30 segundos y por último repetir el enjuague de ácido acético en la zona. Para el estudio microscópico de la muestra utilizaron tinción de Papanicolau. Fueron observadas 100 células por portaobjetos. Las características citológicas fueron evaluadas y calculadas estadísticamente mediante la prueba de Mann Whitney. El uso de ácido acético al 1% como parte del protocolo de tinción con azul de toluidina aumenta la claridad de los frotis citológicos. El azul de toluidina mejoró las características de tinción de los componentes de la tinción de Papanicolau en términos de especificidad (delineación del sitio clínico) y sensibilidad (mejor calidad del frotis y de las características celulares). Sin embargo, detectaron resultados dudosos en la observación de células queratinizadas y de aglomeración celular. La comparación de los cambios citomorfológicos en los grupos de fumadores y no fumadores reveló pleomorfismo celular, aglomeraciones aumentadas, micronúcleos, binucleación de células y queratinización en los frotis de los fumadores. Estos autores concluyeron que el uso de azul de toluidina mejora la evaluación de frotis citológicos con tinción de Papanicolau. El tabaquismo produce alteraciones celulares en la mucosa bucal clínicamente normal que se muestra en la citología exfoliativa y los resultados de los cambios celulares en estos frotis de los fumadores pueden utilizarse como método de diagnóstico precoz y como una herramienta educativa en el asesoramiento para dejar de fumar.

Sharbatdaran et al.⁵⁷ realizaron un estudio en Irán, en el 2017, con la finalidad de aumentar la precisión del método de la citología exfoliativa oral en la evaluación de las características displásicas usando azul de toluidina. Para la investigación trabajaron con 60 pacientes masculinos fumadores y no fumadores con mucosa clínicamente sana, a quienes les tomaron 2 muestras. Para la primera muestra, el protocolo consistió en pedirle a los pacientes enjuagarse la boca con agua, y posteriormente se tomó la muestra con un citobrush por los bordes de la lengua, por ser la zona de mayor incidencia de carcinoma espinocelular. Luego, con una torunda

con ácido acético al 1% secaron la zona, aplicaron azul de toluidina al 1% y repetían la aplicación del ácido acético para finalmente tomar la segunda muestra. Evaluaron y compararon ambos frotis bajo un microscopio de luz con 400x tomando en cuenta factores como: la agrupación celular, escamas de queratina, micronucleación, relación núcleo-citoplasma, binucleación, pleomorfismo nuclear, pleomorfismo celular, atipia celular y presencia de bacterias. Observaron que ante el uso de azul de toluidina hay una mejora en cuanto a la disminución de la cantidad de agrupación celular lo cual muchas veces impide un diagnóstico certero. Concluyeron que el azul de toluidina mejora las características celulares, nucleares, y estructurales de los frotis citológicos y recomienda la combinación del azul de toluidina y la citología exfoliativa.

Epidemiológicamente hay pocos estudios realizados con citología exfoliativa de mucosa bucal clínicamente sana, entre ellos:

En el año 2016, Moreno y Vicuña³ realizaron un estudio, en la Universidad Andrés Bello de Chile, con la finalidad de determinar la frecuencia del polimorfismo del gen GSTM1, biomarcador genético de susceptibilidad en cáncer oral, en mucosa lingual normal en personas mayores de 40 años mediante la técnica de citología exfoliativa. La muestra fue tomada con un hisopo en la zona de los bordes laterales de la lengua de 90 pacientes: 60 mujeres y 30 hombres, depositada en tubos para centrifuga tipo falcon, luego procesada para la extracción y amplificación del ADN. Obtuvieron que el polimorfismo del gen GSTM1 fue encontrado en 29 pacientes, correspondiendo al 32,22% de la muestra. De la misma manera, la presencia del polimorfismo GSTM1 no se asoció a ninguno de los factores que se incluyeron en el estudio (tales como género, edad, hábito tabáquico, consumo de alcohol ni a los antecedentes de cáncer en la familia). Esto se explica debido a que el polimorfismo se ha encontrado fuertemente ligado a la etnia de los individuos, siendo más frecuente en asiáticos, africanos e indios, y que en Chile la población es considerada altamente mestiza, por lo que la presencia del polimorfismo del gen GSTM1 podría variar al considerar diferentes zonas geográficas del país.

En esta dirección, hay estudios realizados donde utilizan la citología en mucosa clínicamente sana como objeto de estudio:

En el 2003, Da Silva⁶⁴ realizó un estudio en la Universidad Federal de Río Grande del Sur Brasil, en el cual evaluó la asociación entre condiciones de salud bucal, factores de comportamiento sociodemográficos y el patrón citopatológico de mucosa bucal normal en hombres adultos. Para esto, los investigadores seleccionaron a 117 hombres mayores de 25 años que asistieran al área de triaje de la Universidad. La muestra fue tomada, en cada paciente, en borde de lengua y en piso de boca, posteriormente se analizaron las células de manera cualitativa según criterios estandarizados por la Universidad Nacional de Brasilia. El estudio concluyó que el consumo de alcohol puede generar comportamiento alterado de las células, aceleración en la descamación y queratinización, así como aumento significativo de las células intermedias. Mientras que, los pacientes portadores de prótesis removibles mostraron una disminución en el número de células descamadas anucleadas.

En el 2004, Orellana et al.⁵⁶ realizaron un estudio en la Universidad de Chile en pacientes con mucosa bucal clínicamente sana, con el propósito de evaluar la profundidad de muestras citológicas obtenidas con cepillo para frotis (*citobrush*) y comparar el grado de queratinización y la actividad nucleolar en pacientes fumadores y no fumadores, se tomaron tres muestras en el borde de la lengua utilizando espátula de madera y *citobrush*. Para el estudio los investigadores seleccionaron a 30 pacientes fumadores que tuvieran como condición consumir más de 10 cigarrillos al día por un mínimo de 10 años, que no bebieran alcohol, ni usaran enjuagues con alcohol en forma diaria; así mismo como grupo control seleccionaron 30 pacientes no fumadores con características similares, dos muestras fueron tomadas con *citobrush*, una teñida con Papanicolau y la otra con tinción AgNORs, la tercera muestra fue tomada con la espátula de madera y teñida con Papanicolau. Los frotis fueron observados en un microscopio Nikon Microphot-FXA, utilizando un aumento 1000x y aceite de inmersión. En las muestras con espátula de madera se obtuvo un mayor porcentaje de células epiteliales superficiales anucleadas y con el *citobrush* se obtuvieron células más profundas (tipo intermedias). Los individuos fumadores presentaron un mayor

porcentaje de células superficiales anucleadas con ambas técnicas, la diferencia fue estadísticamente significativa con la técnica *citobrush*. El promedio de AgNORs en las células nucleadas fue mayor en los individuos fumadores que en los no fumadores. Sus resultados expresan que en la mucosa oral del borde de lengua clínicamente normal el consumo de tabaco produce alteraciones celulares evidenciadas en la citología exfoliativa. Además, concluyeron que el *citobrush* permite obtener células de estratos más profundos, y sugieren que el análisis de AgNORs puede ser un método auxiliar para monitorear individuos en grupos de riesgo para la prevención del cáncer oral.

Salazar et al.¹ realizaron un estudio el año 2005, con el propósito de determinar mediante exámenes citológicos la presencia de hifas y/o pseudohifas de *Candida* y mediante cultivos la presencia de unidades formadoras de colonias en sujetos adultos con mucosa oral clínicamente saludable y relacionar los resultados con factores predisponentes. En la investigación examinaron 120 sujetos adultos entre 20 y 59 años que acudieron al servicio de diagnóstico de la Clínica Estomatológica de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, y que aceptaron voluntariamente participar en el estudio. Para el estudio se tomaron muestras de las zonas de lengua, paladar duro y carrillo con un hisopo estéril; el cual se extendió en una lámina portaobjetos, se rotuló y colocó en alcohol isopropílico al 95% para su respectiva fijación y posterior tinción en coloración PAS (reactivo de Peryódico Ácido Schiff). Con otro hisopo estéril se procedió a realizar otros frotis y se colocaron en un tubo de ensayo, completamente hermético y estéril, conteniendo éste 1,8 ml de agua destilada como vehículo para su posterior cultivo. Las muestras fueron estudiadas al microscopio óptico con aumentos de 10X y 40X. Los resultados fueron llevados a la ficha como positivo (+) cuando estaban presentes las hifas y/o pseudohifas de *Candida* y negativo (-) en ausencia. Previamente, para confirmar la presencia de hifas y/o pseudohifas y determinar la cantidad de muestra a cultivarse realizaron la prueba de KOH, la cual definió como positivo (+) cuando hubo presencia de levaduras, blastosporas, hifas y/o pseudohifas. Se determinó la especie de *Candida* mediante la prueba del tubo germinativo: tubo germinativo positivo es *C. albicans* y en ausencia se consideró

Candida spp. También se observó el crecimiento de las colonias de la cándida en medio agar Sabouraud, como formaciones redondeadas de color crema, consistencia pastosa y textura lisa o rugosa y luego se realizó el recuento de UFC, contabilizándose cada una de ellas; de los 120 sujetos examinados encontraron para el grupo etario de 20 a 29 años de edad, que seis (5%) sujetos desarrollaron hifas y/o pseudohifas de cándida, mientras que 114 (95%) no desarrollaron ($p>0,05$), de igual forma no se encontró relación entre la presencia de cándida con respecto a la edad, género, uso de medicamentos, índice de higiene oral, especie de cándida, mientras que si se encontró relación entre la presencia de hifas y/o pseudohifas de cándida y el uso de prótesis dental, xerostomía y UFC/ml, hallándose relación estadística altamente significativa ($p<0.01$). Concluyeron, que puede existir la presencia de hifas y/o pseudohifas de cándida en sujetos adultos con mucosa oral clínicamente saludable sin evidencia clínica de infección candidiásica.

Posso et al.⁵⁸ realizaron un estudio, en la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela en el año 2008, de tipo descriptivo-transversal para estudiar la citología bucal como técnica de diagnóstico en la detección de lesiones bucales sin evidencia clínica; realizaron toma de muestra por raspado en los carrillos y fondo de surco vestibular con espátula de Ayres a 59 pacientes que asistieron a la clínica de estomatología y a la Clínica Integral del adulto III. Las muestras fueron fijadas y seguidamente coloreadas con la tinción de Papanicolau, se efectuó el análisis diagnóstico de los extendidos que a pesar de ser tomados en mucosa clínicamente sana se detectaron cambios celulares representados por un 37.3% indicando que la citología bucal sirvió como método de despistaje y ayuda para prevenir la aparición futura de lesiones clínicas en los pacientes, además consiguieron algunas alteraciones en pacientes consumidores de alcohol aunque el resultado no fue estadísticamente significativo. Concluyeron que la citología bucal es una técnica sencilla, de gran aceptación por los pacientes y aplicable a grandes masas.

De Guglielmo et al.²⁴ realizaron un estudio transversal, donde se evaluaron pacientes con infección genital por VPH, diagnosticadas en el Servicio de Ginecología de la Maternidad “Concepción Palacios” Caracas, Venezuela, entre

enero y noviembre de 2008. El grupo de estudio estuvo compuesto por 60 pacientes las cuales debían tener diagnóstico sugestivo de infección genital por VPH, y no presentar procesos infecciosos activos en la cavidad bucal, ni con tratamientos previos de lesiones preexistentes. A las pacientes se les realizó la evaluación citológica mediante citología de la región cervical, según el sistema de clasificación Bethesda. A cada paciente se le tomó una muestra con *cytobrush* para extracción de ADN y detección de VPH mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Igualmente, en cavidad bucal pasaron un *cytobrush* sobre las caras interna y externa de los labios superiores e inferiores, de la región gingival y las caras anterior y posterior de la lengua, para hacer extendidos sobre una lámina portaobjetos, que inmediatamente fueron fijados con aerosol. Adicionalmente, se tomó otra muestra de las mismas características que fue colocada en un vial individual con solución fisiológica para extracción de ADN y detección de VPH mediante PCR, además en la cavidad bucal se tomó biopsia después de la aplicación de ácido acético al 5% durante 3 minutos y evaluación con magnificación aportada por equipos de colposcopia. En la citología de la cavidad bucal hubo 3/60 casos (5%) que presentaron anomalías en las células epiteliales, de los cuales solo uno fue positivo en la detección de VPH mediante PCR, identificándose los tipos 6 y 16. De las muestras restantes, 25/60 (41, 67%) no mostraron anomalías al frotis (12 fueron positivas y 13 negativas en la detección del virus) y 32/60 (53,33%) presentaron cambios celulares benignos (16 fueron positivas y 16 negativas en la detección de VPH); en estos dos grupos se identificaron los tipos virales 6 y 11 (71,43 y 22,85%, respectivamente) y solo un caso resultó no tipificable (2,86%). Al comparar los resultados de la citología y la colposcopia con la detección molecular de VPH en cavidad bucal, se obtuvo para la citología una sensibilidad y especificidad de 3,5 y 93,6%, respectivamente, mientras la colposcopia registró una sensibilidad de 27,6% y una especificidad de 74,2%. Los resultados obtenidos sugieren que la infección por VPH en boca y cérvix presenta un comportamiento biológico diferente, que pudiera incluir diferencias en la capacidad para resolver la infección en ambas regiones anatómicas y el tropismo viral o preferencia del virus por una mucosa

particular. También resaltan la importancia potencial de la detección de VPH en boca para el control de la infección en poblaciones sexualmente activas con infección genital.

Linares et al.³⁹ realizaron un estudio en la Facultad de Odontología de La Universidad del Zulia en el año 2015, con el objetivo de determinar a través de citología exfoliativa, los cambios citomorfométricos presentes en mucosa bucal de pacientes trasplantados sometidos a terapia inmunosupresora, los pacientes fueron divididos en dos grupos conformados por 10 individuos cada uno, entre 26 y 66 años, emparejados por grupo etario y sexo. Un grupo de pacientes con antecedentes de terapia inmunosupresora por trasplante renal pertenecientes al Servicio de Nefrología del Hospital Universitario de Maracaibo (HUM) y el otro de individuos sanos, atendidos en la clínica integral del adulto. Se incluyeron de manera aleatoria en el estudio, los pacientes de ambos sexos, trasplantados y con indicación de terapia inmunosupresora con más de 3 fármacos por más de 5 años; excluyéndose a todos aquellos sujetos que presentaron antecedentes de inmunosupresión menor a 5 años, consumo de alcohol, tabaco, drogas, condiciones orales inadecuadas, cáncer y radio/quimioterapia, así como diagnóstico de alguna otra entidad sistémica. A cada paciente se le realizó citología exfoliativa de la mucosa del carrillo, utilizando una espátula de madera estéril, las muestras fueron fijadas con alcohol al 96% (Fix-cell®) durante 20 min y coloreadas con la técnica del Papanicolau (PAP's), analizadas en un microscopio binocular (Plan Acromatric Infinito L-5000, serial 20080445M206), se seleccionaron quince células de cada lámina, observándose en cada una de éstas la forma celular, proporción del área nuclear (AN), área citoplasmática (AC), la relación del área núcleo/citoplasma (AN/AC) y otras atipias celulares. No se encontraron diferencias entre las muestras de los pacientes trasplantados y los del grupo control. Solo en 10% de las muestras se observaron células normales con aumento de tamaño, inflamación mediada por polimorfonucleares y presencia de *Cándida spp*, concluyeron que otros estudios con una muestra mayor y métodos computarizados de análisis celular podrían ser realizados para profundizar estos hallazgos.

Da Silva et al.⁶⁵ realizaron un estudio en Brasil, en el 2016, evaluaron la asociación entre el estado de salud bucal, los factores sociodemográficos y el comportamiento del patrón de madurez de la mucosa oral epitelial normal. Para ello, recogieron muestras del borde de la lengua y ambos lados de piso de boca de 117 hombres sin lesiones evidentes en la cavidad bucal, y sin hábitos tabáquicos. Las muestras se tiñeron con el método de Papanicolau y se clasificaron en: células anucleadas, superficiales con núcleos, células intermedias y parabasales. La cuantificación se realizó seleccionando las primeras 100 células en cada portaobjeto. Las variables sociodemográficas y de comportamiento se obtuvieron de un cuestionario estructurado. La salud bucal se analizó mediante el examen clínico, registrando el índice de dientes cariados, faltantes, obturados y el uso de prótesis. Se aplicaron modelos de regresión lineal multivariable. Los resultados indican que no hubo diferencias significativas para las variables estudiadas que influyeron en el patrón de maduración de la mucosa oral excepto para el consumo de alcohol. Hubo un aumento de las capas superficiales celulares del epitelio con el consumo crónico de alcohol. Es conveniente utilizar la técnica citopatológica de Papanicolau para analizar el patrón de maduración de los sujetos expuestos, con una fuerte recomendación para aquellos que consumen alcohol, un factor de riesgo para el cáncer oral, en el que se detecta fácilmente un cambio en la proporción de tipos celulares.

Caciva¹⁰ realizó un estudio en la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina en el año 2016, para analizar la expresión de los marcadores de malignidad en células exfoliadas y biopsias de la mucosa bucal en voluntarios consumidores de tabaco, alcohol y mate. La muestra fue constituida por 80 individuos adultos sanos que acudieron a la cátedra de estomatología A y B de la Facultad de Odontología, 41 mujeres y 39 hombres, entre 18-87 años, se obtuvieron células con citobrush en 3 zonas de la mucosa bucal clínicamente sana, en piso de boca, mucosa yugal y paladar blando. En caso de presentar lesión la muestra se tomaba del lado contralateral (sano). Las muestras se colorearon con Papanicolau, fueron observadas en fotomicroscopio AxioKop2 MOT con software de procesamiento a una magnificación de 40x.

Además, se evaluó la expresión inmunohistoquímica de óxido nítrico sintasa (NOS2) y anhidrasa carbónica IX (CA-IX), en pacientes que requerían tratamiento quirúrgico. Los resultados reflejaron que las personas que consumían tabaco, alcohol y mate presentaron una reducción en la relación núcleo-citoplasma. En las biopsias de mucosa clínicamente sana mostraron mayor positividad de NOS2 y CA-IX con diferentes grados de expresión a nivel epitelial, el autor concluyó que los cambios morfológicos observados debido al consumo de tabaco, alcohol y mate en exceso producen alteraciones que podrían asociarse a cambios tempranos de una cancerización y además la presencia de NOS2 y CA-IX nos confirma el daño celular.

Jindal et al.⁶⁶ realizaron un estudio en India en 2017, en el cual determinaron y compararon la alteración en las células de la mucosa bucal aparentemente normales bajo el efecto del alcohol y el tabaco mediante la citología con coloración de AgNORS evaluando la organización nuclear y micronúcleos. El estudio consistió en un total de 100 sujetos que se dividieron en: cuatro grupos con 25 sujetos con hábito de consumo de alcohol, 25 sujetos consumidores de tabaco, 25 consumidores de alcohol y tabaco y 25 de grupo control que no consumían alcohol, ni tabaco. Se tomaron dos frotis de cada sujeto con la ayuda de cepillo citológico. El frotis se fijó en húmedo y se tiñó con AgNOR y la técnica de tinción con naranja de acridina y se evaluó la región del organizador nucleolar y el recuento de micronúcleos, respectivamente. Se contaron 500 células por campo para anotar los cambios. Los resultados indican estadística significativa entre los resultados obtenidos con grupos de estudio y el grupo control. Los micronúcleos presentes en el grupo consumidor tabaco y el grupo de alcohol y tabaco fueron estadísticamente significativos en comparación al grupo control, pero no así el grupo consumidor de alcohol y el grupo control. El consumo de tabaco y alcohol produce alteraciones en células de la mucosa bucal clínicamente normales, que pueden conducir acumulativamente a cambios carcinomatosos. El resultado de estos cambios puede ser utilizado como herramienta educativa para incentivar el abandono de los hábitos de consumo de alcohol y tabaco.

A su vez, resultan oportunos estudios realizados con citología en mucosa clínicamente sana como grupo de control:

Singh⁵² realizó un estudio en India en el año 2010, con la finalidad de detectar cáncer en fase pre-invasiva mediante el uso de citología exfoliativa y explorar la posibilidad de utilizar esta técnica en el diagnóstico de otras lesiones orales consideradas premalignas. La muestra para el estudio fue de 102 pacientes desde julio 2.004 a octubre del 2.005. Realizaron 2 extendidos citológicos por muestra tomada, secaron al aire y utilizaron la coloración rápida de Papanicolaou. Los frotis evaluaron junto con datos clínicos y epidemiológicos y se clasificaron en grupos de I a IV según la clasificación de Papanicolaou. Resultaron 25 casos normales tomados de personas con mucosa clínicamente sana, 47 casos de leucoplasia con edad media 47,5 años, 85% hombres. El frotis muestra las enucleaciones predominantes en un 53%. 6 casos fueron fibrosis submucosa 66,7% mujeres con edad media de 38,3 años y, el frotis reveló cambios en los núcleos en 66% de los casos. Incluyeron dos casos de hiperemia mucosa (eritema), un caso de úlcera traumática y mucosa bucal granular. De los veinte casos de malignidad, los hombres (75%) tenían una edad promedio de 46 años. Así mismo, la mejilla y la lengua fueron el sitio común con incidencia del 60%. El frotis reveló células inflamatorias en el 100%, células malignas en el 75% de los casos, ya sea en grupos o solos. En el estudio, el 75% de los casos fueron positivos para el cáncer, el 10% sospechoso de cáncer y el 15% restante fueron negativos para el cáncer. Concluyó que la citología es una herramienta confiable en el diagnóstico de la presencia o ausencia de malignidad en una lesión con alta tasa de precisión. La técnica citológica oral es fácil de hacer y puede proporcionar la ayuda del cirujano, donde puede dudar en realizar un procedimiento invasivo, como una biopsia, o desear más información sobre una lesión antes de referirse al paciente.

Jaitley et al.⁴⁹ realizaron un estudio en India en el 2015, para determinar las características citológicas observadas en los frotis mucosos de los pacientes con fibrosis submucosa oral (OSF) y compararlos con los de las características de las células mucosas normales. Este estudio se realizó a través del estudio de citología exfoliativa oral (OEC) de 60 personas, 30 casos clínicamente diagnosticados de OSF

y 30 casos de mucosa clínicamente normal sin ninguna otra enfermedad sistémica. En ambos casos se tomó la muestra del carrillo derecho de las personas. Observaron que todos los frotis de la mucosa bucal clínicamente normal mostraron citología de Clase I. Las células exfoliadas eran de tamaño y forma normales con intensidad de tinción normal y características nucleares normales. Los 30 casos del grupo de estudio mostraron características sugestivas de cambios citológicos benignos atípicos (citología de Clase II). En el presente estudio, a pesar del pequeño número de casos, los rasgos citológicos consistentemente observados en todos los casos, fueron indicativos de un cambio premaligno y enfatizaron un seguimiento regular de los pacientes. La detección temprana de una lesión oral premaligna promete mejorar la tasa de supervivencia de los pacientes que sufren estas condiciones. Estudios adicionales llevados a cabo en un grupo de estudio más grande establecerían el papel de la citología exfoliativa oral en la predicción del potencial premaligno de la fibrosis submucosa oral. OEC es un complemento de la biopsia en estos casos y hace que la detección del cáncer sea fácil de manejar, ya que más número de casos se pueden examinar en menos tiempo.

En el año 2016, Mukherjee et al.⁵⁵ realizaron un estudio experimental en la Universidad Dental de Vananchal, India, con el objetivo de evaluar los cambios citológicos y citomorfométricos de las células descamadas de la cavidad bucal de 300 pacientes. A partir de donde se clasificaron 200 pacientes con hábitos tabáquicos: un grupo con mucosa clínicamente sana, como grupo experimental, y otro grupo con alguna lesión en la mucosa, como grupo control positivo, y finalmente 100 pacientes sin historial de tabaquismo y con mucosa sana como grupo control. El estudio consistió en tomar muestras en la mucosa bucal con *cytobrush* a todos estos pacientes y procesar las mismas con hematoxilina y eosina para evaluar a través de un microscopio. En todos los grupos se estudió el área, perímetro y contorno nuclear; el área, contorno y perímetro de la célula y la relación núcleo-citoplasma comparándose con cada uno de los grupos de estudios. Tuvieron cambios significativos en todos los grupos. Se destaca la relación causa-efecto entre el uso del tabaco en variadas formas y alteraciones cuantitativas celulares y nucleares. De los resultados obtenidos los

autores concluyeron que la detección de cambios tempranos en la mucosa oral clínicamente normal de los pacientes que consumen tabaco es posible mediante la citología bucal. Los autores recomiendan más estudios con un grupo de estudio más amplio y más parámetros en la búsqueda de la técnica no invasiva más confiable para el diagnóstico de cáncer y el pronóstico post radioterapia.

Kabiraj et al.⁶⁷ realizaron un estudio en India en el 2016, en el cual evaluaron las características citomorfológicas de los trastornos potencialmente malignos más comunes (leucoplasia, liquen plano y fibrosis submucosa oral) mediante un procedimiento simple de citología para ilustrar su importancia del cribado. El estudio consistió en tomar muestras a 160 sujetos con edades en 25-50 años; entre ellos, 40 fueron diagnosticados con leucoplasia oral, 40 con liquen plano oral, 40 con fibrosis submucosa oral y 40 en el grupo control quienes no tenían hábitos, ni estaban comprometidos sistémicamente. Los frotis preparados se sometieron a tinción de Papanicolau y se analizaron microscópicamente para la evaluación de las características citomorfológicas. Cuando se analizaron microscópicamente, 36 (90%) de las 40 lesiones leucoplásicas orales mostraron rasgos citológicos de Clase II, mientras que 4 (10%) revelaron rasgos de Clase I. Entre 40 pacientes con liquen plano oral, 26 (65%) mostraron Clase II mientras que los 14 restantes (35%) revelaron características de Clase I. En 40 sujetos con fibrosis submucosa oral, 32 (80%) mostraron rasgos de Clase II, mientras que los otros 8 (20%) mostraron rasgos de Clase I. Todos los 40 sujetos de control mostraron características de Clase I. Por lo tanto, OEC puede ser ampliamente defendido como una adición a la conclusión clínica y un complemento a la biopsia. La muestra se tomó con una paleta de madera posterior tinción con Papanicolau y se observó bajo el microscopio. Las células observadas fueron clasificadas según la clasificación de Papanicolau, obteniendo que: 36 (90%) de las 40 lesiones leucoplásicas orales mostraron características citológicas de Clase II, mientras que 4 (10%) revelaron rasgos de Clase I. En 40 pacientes con liquen plano oral, 26 (65%) mostraron características de Clase II los restantes 14 (35%) revelaron rasgos de Clase I. En 40 sujetos con fibrosis submucosa oral, 32

(80%) mostraron rasgos Clase II, mientras que los otros 8 (20%) mostraron características Clase I. Todos los casos controles tuvieron características clase I.

Estudios citológicos realizados en mucosa expuesta a algún agente etiológico de cambios citológicos:

En el año 2009, Ruiz et al.⁶⁸ realizaron una investigación de tipo descriptivo, prospectivo, longitudinal con el propósito de determinar la presencia del VPH en cavidad oral por técnica de hisopado en el Hospital Oncológico “Padre Machado” Caracas - Venezuela. El procedimiento metodológico estuvo dividido en tres fases, la primera fase: fue el llenado del cuestionario con recolección de datos antes de la toma de la muestra, posteriormente se procedió a la toma de muestra con hisopado en pilares amigdalinos, amígdalas, carinas, región sublingual, se realizó el extendido de la muestras en láminas portaobjetos con posterior fijación de la misma; en la segunda fase: Se obtienen resultados citohistológicos de las láminas enviadas; en la última fase: Se realizó nueva toma de muestra por técnica de hisopado a pacientes con resultados positivos para VPH para la determinación del serotipo de virus, la técnica de diagnóstico que se utilizó fue la de PCR. A las muestras de hisopados se les realizó directamente la extracción de ADN y se realizó la amplificación del ADN por PCR. Los productos amplificados fueron evaluados por electroforesis en gel de agarosa 3%, y observados en transiluminador previa tinción con bromuro de etidio. De los 85 pacientes estudiados, 49 eran de sexo femenino y 36 masculinos. 100 % de los pacientes presentaron células epiteliales y linfocitos. En el diagnóstico microscópico 6 pacientes resultaron positivos para VPH de los cuales 5 eran mujeres y sólo un hombre. Las manifestaciones de proceso inflamatorio de leve a moderado estaban presentes en 40 de los pacientes, 32 de los cuales manifestaron hábitos tabáquicos; 61 de los pacientes hábitos alcohólicos; 32 pacientes con enfermedades concomitantes entre las cuales están diabetes mellitus, hipertensión arterial, infección por VIH, y VPH entre otras; con estos resultados los autores concluyen que la técnica aquí presentada, se podría incluir como método de pesquisa en la población de riesgo

a infección de VPH y por ende hacer diagnóstico en etapas pre malignas de la enfermedad.

En 2012, Álvarez et al.⁴⁷ realizaron una investigación de tipo observacional descriptiva, con un enfoque cuantitativo, de diseño no experimental transeccional, cuyo objetivo fue evaluar posibles cambios celulares en los diferentes grados de Estomatitis Subprotésica (ESP). La muestra estuvo constituida por 63 pacientes portadores de prótesis total superior, diagnosticados clínicamente con ESP, que acudieron a la clínica de estomatología y clínica integral del adulto III de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, durante un período de 6 meses. Para la recolección de los datos se emplearon dos fichas, una clínica y una citológica. Las muestras fueron tomadas con un cepillo estéril realizando un movimiento de arrastre, después realizaron el extendido en el portaobjeto limpio y desengrasado inmediatamente fijaron el frotis, posteriormente se efectuó el procesamiento de las muestras a través de la técnica de coloración de Papanicolau. Finalmente se procedió a realizar el estudio microscópico de la muestra para determinar los cambios celulares que se presentaron en las muestras procesadas. Los resultados indicaron que en cuanto a los grados de ESP, prevaleció el grado II. En relación con el componente celular, la presencia de células superficiales en la totalidad de los pacientes fue abundante, predominando en los grupos de pacientes con grado II y grado III de ESP, mientras que las células intermedias predominaron de manera moderada en la totalidad de los pacientes. En los pacientes con ESP se observó el aumento progresivo de la presencia de células basales a medida que iba aumentando el grado de ESP. Concluyeron que el componente celular en los frotis citológicos indicó que el epitelio se encuentra afectado en su espesor, y presenta rasgos característicos de acuerdo al grado de inflamación; se pudo evidenciar el aumento progresivo de la presencia de cambios reactivos a medida que aumentó el grado de la ESP.

Torres et al.⁵¹ en la Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela, en el 2012, realizaron un estudio descriptivo correlacional de corte transversal para determinar los cambios citológicos en epitelio de tejido de soporte protésico. Con una muestra de 30 pacientes edéntulos total, la mitad que tuviesen prótesis de larga data y la otra

mitad que el uso de la dentadura fuese menor a 5 años. La toma de muestra fue en el paladar duro (en aquellos pacientes portadores de dentaduras totales superiores) y el reborde residual inferior (en aquellos pacientes portadores solamente de dentadura total inferior). La muestra fue recolectada mediante el método de raspado utilizando un hisopo estéril sobre una lámina porta objeto. Los resultados obtenidos indicaron que el grupo de larga data presentó 53,33% cambios citológicos clase III, 33,33% clase I, y 13,33% clase II. Mientras que el grupo de uso reciente presentó 66,66% clase I, 26,66% clase II y 6,66% clase III de cambios citológicos. Aplicaron chi cuadrado de Pearson y encontraron significancia estadística entre los cambios citológicos y el tiempo de uso de las prótesis ($p < 0.05$). Los hallazgos sugieren que el uso de dentaduras totales de larga data produce cambios citológicos en los tejidos de soporte protésico. De igual forma, se debe considerar el empleo de la citología oral como un examen diagnóstico de rutina en la consulta odontológica, con la finalidad de evaluar periódicamente los cambios citológicos localizados en los tejidos de soporte protésico de los pacientes portadores de prótesis.

En el 2014, Parra et al.⁷ realizaron una investigación transversal de tipo descriptivo con el objetivo de determinar los cambios celulares en la mucosa bucal de pacientes consumidores de chimó. La muestra estuvo constituida por 120 pacientes consumidores habituales de chimó seleccionados de una población de habitantes de la zona del páramo del estado Mérida - Venezuela. Una vez seleccionados los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, procedieron a realizar un examen clínico de rutina, identificaron las láminas portaobjetos con los datos de cada paciente y número de ficha clínica, y realizaron los pasos para la obtención de una buena muestra citológica por el método de raspado, curetaje o legrado, para su posterior procesamiento en el laboratorio de anatomía patológica. La citología fue tomada en el área en donde el paciente indica que se coloca el chimó, en su gran mayoría, mucosa sublingual, la cara lingual de los incisivos inferiores y algunos pocos en el surco vestibular inferior, a nivel de premolares y molares. En cuanto a los hallazgos histológicos, al tipo de célula obtenida, se obtuvo que las células superficiales fueron las de mayor predominio, estuvieron presentes en el 95% de las muestras estudiadas,

seguidamente las células intermedias que estuvieron presentes en 52.5% de los casos. En cuanto el agrandamiento nuclear, como criterio directo de malignidad, el mismo estuvo ausente en el 95% de los pacientes (114), sólo el 2,5% de ellos (3) lo presentaron de manera leve a moderada. El 40% de los pacientes presentó infiltrado inflamatorio leve siendo esta la característica de mayor predominio, de igual manera 61 pacientes tuvieron presencia de polimorfonucleares, correspondiente al 50.8% de los casos. Con los resultados obtenidos concluyeron que el consumo de chimó produce alteraciones a nivel celular en la mucosa bucal; cambios que se encuentran directamente relacionados con la cantidad consumida diariamente, además en cuanto al diagnóstico citológico, la mayoría de los pacientes fueron diagnosticados como Grado I (inflamatorio), seguido de Grado 0 (normal), pero es importante destacar que dos de los pacientes fueron diagnosticados Grado II (sospechoso) y uno de ellos Grado III (positivo), lo que permite afirmar que la citología puede ser un medio eficaz de diagnóstico precoz.

En 2016, González et al.⁹ realizaron una investigación de tipo observacional de corte transversal en la Cátedra de Clínica Estomatológica, Servicio de Estomatología y Hospital Odontológico Universitario de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste Argentina. El objetivo de la investigación fue determinar la acción térmica del mate como factor de riesgo en el cáncer bucal. En el estudio la muestra estuvo constituida por 100 individuos de ambos sexos que concurrieron voluntariamente para su atención en las clínicas, durante el período 2010-2014, se formaron dos grupos de trabajo, un grupo constituido por cincuenta (50) individuos consumidores de mate caliente con bombilla metálica, y otro grupo de cincuenta (50) individuos fumadores y consumidores de mate caliente con bombilla metálica. Cada individuo preparó de manera habitual su mate y antes de la ingesta, se registraron en planillas, la temperatura del agua del termo con un termómetro de mercurio y luego la temperatura de los sectores de mucosa bucal a estudiar: semimucosa labial inferior (lugar donde apoya la bombilla metálica), zona retrocomisural de la mucosa yugal y a los lados del rafe medio del paladar duro con un termómetro digital láser marca OMRON. Antes de consumir el primer mate

también obtuvieron muestras a través de citología exfoliativa de las zonas de interés. Enviaron al laboratorio de anatomía patológica para su posterior estudio histopatológico. El paciente iniciaba el consumo de mate y a los 60 minutos efectuaban las tomas de temperatura de la mucosa bucal en las mismas zonas antes estudiadas y con su correspondiente examen citológico, observaron que la relación entre grado de inflamación después del consumo de mate y zonas topográficas de la mucosa bucal variaba según su localización, observándose mayor grado de normalidad en la mucosa yugal (60 casos), luego en el labio inferior (22 casos) y en el paladar duro (18 casos). Mientras que se encontró inflamación leve en mayor cantidad en el paladar duro (24 casos), así como moderada y severa en 4 y 8 casos respectivamente. Con la prueba de Chi Cuadrado = 0,0102 se estableció que la intensidad de la inflamación en el epitelio bucal registrada según diferentes criterios histopatológicos está directamente relacionada con la zona topográfica estudiada, en este caso indicando mayor grado de severidad en el paladar duro. Con respecto a la relación entre el consumo diario de mate y el hábito de fumar, comprobaron que los pacientes fumadores, antes de iniciar el consumo de mate, poseían un 70% de células inflamatorias leves y un 30% normales en la mucosa bucal, mientras que si no fumaban sólo el 20% eran células inflamatorias leves y el 80% normales. Al terminar el consumo de mate, los pacientes fumadores registran células inflamatorias severas (39%), moderadas (27%) y leves (27%) y un (7%) normales en el epitelio bucal, mientras que los no fumadores sólo presentaron células inflamatorias leves (45%) y moderadas (4%) y un (51%) normales, concluyen así que hay una significancia estadística entre la citología y la temperatura de las mucosas después del consumo de mate caliente.

Uso de otros métodos para diagnosticar lesiones potencialmente malignas:

En 2005, Brunotto et al.¹⁸ realizaron un estudio en la Facultad de Odontología de La Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, con el objetivo de inmunomarcarse las oncoproteínas CK14, p53, p21 y Bcl-2 a fin de evaluar la magnitud de su expresión en lesiones estomatológicas premalignas y malignas en el epitelio oral de

pacientes, y comparar esta expresión con alteraciones en las citologías exfoliativas de los mismos pacientes. Fueron estudiados 46 pacientes, se incluyeron a todos los sujetos que presentaban lesiones en mucosa oral con características clínicas consistentes con carcinomas, leucoplasias o líquenes orales planos, con y sin infección con Virus de Papiloma Humano (VPH), se le tomaron biopsias y citologías exfoliativas. En la Citología Exfoliativa (CE) se recolectaron células de la mucosa oral directamente de las lesiones y de la zona opuesta clínicamente sana, en el mismo paciente, por cepillado (*citobrush*) y fueron procesadas con tinción de Papanicolau (PAP). En los sujetos controles, las citologías fueron obtenidas por cepillado de mucosa oral no queratinizada perteneciente al carrillo, lengua y/o paladar. Después de la tinción con PAP, las citologías fueron observadas en un microscopio Olympus BX50 y analizadas con un software para análisis de imágenes. Los autores concluyeron que la CE-PAP en mucosa oral debería ser considerada como un método de diagnóstico presuntivo especialmente en sujetos expuestos a factores de riesgo, si las citologías exfoliativas resultaran anormales la conducta a seguir es realizar un estudio de inmunomarcación de las proteínas CK14, p53, y Bcl-2. No todas las inmunomarcaciones utilizadas resultaron positivas en pacientes con lesiones con el mismo diagnóstico histopatológico. Sin embargo, la inmunomarcación positiva o la sobreexpresión de la citoqueratina CK14 en los estratos epiteliales superficiales deberían ser suficientes indicadores de malignidad como para realizar exámenes más invasivos.

En el 2008, Ferreira et al.⁵ realizaron un estudio en La Pontificia Universidad Católica de Paraná Brasil, con el objetivo de evaluar el efecto del cigarrillo sobre las áreas nucleares (AN), citoplasmáticas (AC), y en la relación núcleo/citoplasma (AN/AC) de células epiteliales de la mucosa bucal de adultos jóvenes. Los investigadores seleccionaron 58 individuos adultos 30 fumadores y 28 no fumadores, a quienes se les tomó una muestra de la mucosa yugal clínicamente saludable por la técnica de Citología exfoliativa en base líquida. La recolección de células realizada utilizó un kit denominado UCM (Universal) Colector del medio de ADN-CITOLIQ System®, Brasil. El material fue procesado en laboratorio siguiendo las

especificaciones del fabricante, dispuesto sobre las láminas de vidrio y fijado por la inmersión en una solución de alcohol étlico absoluto por 20 minutos. Luego se procedió a la coloración de las mismas con la técnica de coloración del Papanicolau y el análisis citomorfométrico de los frotis que fue realizado por medio de microscopía de luz utilizando un microscopio binocular, modelo Olympus BX50 adaptado con ocular WH 10X-H / 22 y objetivos PLAN 40X / 0,25. Obtuvieron como resultado que la media de (AN) para los grupos experimental y de control fue respectivamente, 1530,6 μ m y 1498,6 μ m. La variable (AC) presentando los siguientes promedios: 63780,3 μ m (experimental) y 62929,9 μ m (control). La relación (AN/AC) para el grupo experimental fue de 0,023, mientras que para el grupo control fue de 0,024. La prueba t de Student no mostró diferencias estadísticamente significativas para las variables estudiadas ($p > 0,05$). Este estudio reveló que el consumo de cigarrillo no fue capaz de inducir cambios morfométricos significativos en las células de la mucosa bucal de los jóvenes. Este hecho refuerza la hipótesis de que hay la necesidad de un tiempo de exposición prolongado para que las modificaciones celulares ocurran.

En el 2010, Albornoz et al.⁴¹ realizaron un estudio para evaluar la eficacia del azul de toluidina y lugol en el diagnóstico precoz del cáncer bucal. Para ello, realizaron un ensayo clínico fase II, de extensión diagnóstica, multicéntrico, abierto y no secuencial a 182 pacientes con lesiones cancerizables del complejo bucal desde enero del 2005 a enero del 2010. El procedimiento consistió en hacer registro fotográfico inicial, aplicar el protocolo de ácido acético - azul de toluidina - ácido acético con un microaplicador en la zona, y fotografiaron el tejido, posteriormente, aplicaron lugol y ácido acético y fotografiaron nuevamente. Posteriormente, ellos tomaron muestra de biopsia de las zonas teñidas de azul de toluidina y las no teñidas de lugol. Concluyeron que el azul de toluidina y el lugol mostraron una alta eficacia en el diagnóstico precoz de lesiones displásicas moderadas-severas y carcinomas.

Sassi et al.⁶⁰ realizaron un estudio de prevalencia en Brasil en el 2014. En este trabajo evaluaron el perfil epidemiológico de pacientes ancianos (mayores de 60 años) atendidos en 25 años de campañas de prevención del cáncer oral en el estado de

Paraná, entre 1989 y 2013. Los pacientes, 22.909 voluntarios, fueron evaluados por el equipo de campaña, de manera metódica a través de la inspección de todas las áreas intra-orales. De estos, 6.134 tenían más de 60 años, con aparición de 1.523 lesiones orales durante el examen entre ellas lesiones por origen traumático, lesiones inflamatorias y otros tipos de lesión. El 50,65% de estas personas con alguna lesión eran mujeres y 49,35% hombres. Entre los pacientes mayores de los 60 años evaluados el 80,8% eran caucásicos y otros pertenecen a otros grupos étnicos. En el análisis de los hábitos de salud perjudiciales el 20,5% eran fumadores, el 16,7% eran consumidores de alcohol y en el 40,1% tenían el hábito de tomar mate. El resto de los pacientes, 4.611, no presentaron alteraciones orales durante la evaluación odontológica. Los autores concluyeron que es posible evaluar la presencia de lesiones orales en pacientes ancianos que no serían diagnosticados sin campañas de prevención de la zona. Muestran la importancia de la vigilancia activa de estos pacientes y la educación de la población con respecto a los problemas de salud y la evaluación de la condición bucal periódicamente. La presencia de enfermedades sistémicas y de medicamentos frecuentes entre los ancianos, además de la posible coexistencia de varios factores de riesgo, afecta significativamente el desarrollo de las enfermedades bucodentales, no sólo el cáncer, reduciendo la calidad de vida y la necesidad de atención sanitaria con mayor frecuencia y urgencia. Este trabajo muestra la necesidad de desarrollar más estudios epidemiológicos relacionados con el tema.

Golaszewski et al.²⁷ realizaron un estudio clínico transversal en 2015, el cual tuvo como propósito determinar los cambios tisulares y celulares que ocasiona el tabaquismo en la mucosa bucal de aspecto normal. Fueron incluidos 30 individuos que acudían al Servicio de Odontología de la Universidad Central de Venezuela para la exodoncia de los terceros molares. Esta población fue subdividida en tres grupos tomando en cuenta el estatus tabáquico, 10 individuos que padecían tabaquismo activo (pacientes con consumo activo de cigarrillos de 6 meses o más), 10 individuos que padecían tabaquismo pasivo (individuos en contacto directo diario con un familiar o amigo con tabaquismo activo por un tiempo no menor a 6 meses continuos) y finalmente un grupo de 10 individuos sanos sin contacto conocido o directo con el

humo del cigarrillo/tabaco. A cada paciente le fue realizada una historia clínica exhaustiva que sirvió para determinar la ausencia de cualquier lesión clínica presente en cavidad bucal, se tomó un fragmento de mucosa bucal aparentemente sana no menor a 1 cm de tamaño aproximadamente de la zona retromolar de cada paciente sometido a la exodoncia de terceros molares completamente retenidos. Los fragmentos de mucosa bucal fueron lavados con solución fisiológica y posteriormente se colocaron en formol buffer 10%. Se realizaron los pasos habituales de preparación histológica de tejido blando para la tinción de hematoxilina/eosina (fijación, deshidratación, aclaramiento, inclusión, corte, tinción y montaje). Los resultados obtenidos reflejan que el grupo de los individuos no fumadores presentó en un 100% epitelio paraqueratinizado a diferencia del grupo de individuos con tabaquismo que mostró en un 90% ortoqueratinización ($p= 0,0001$). El estrato basal se presentó intacto en el 100% del grupo de individuos no fumadores mientras que en el 60% de los fumadores se observó duplicado ($p= 0,003$). El infiltrado inflamatorio fue mayor en los fumadores, pero no estadísticamente significativo, a diferencia de la vascularización que se observó estadísticamente disminuida en este grupo. Concluyeron explicando que la mucosa bucal en fumadores muestra numerosos cambios tisulares y celulares que pueden conllevar al desarrollo de lesiones malignas. La ausencia de cambios clínicos no implica que no exista el riesgo de transformación carcinogénica.

Mishra et al.³⁷ realizaron un estudio en la India en 2015, en el cual estudiaron y evaluaron la eficacia diagnóstica y la fiabilidad de la citología de base líquida (CBL) y la citología convencional (CC) con tinción de Papanicolau en carcinoma oral de células escamosas (COCE). La investigación constó de 50 pacientes diagnosticados con COCE los cuales fueron sometidos a ambas técnicas citológicas. Posteriormente compararon los resultados con el diagnóstico histopatológico obtenido previamente. Para citología de frotis convencional de Papanicolau realizaron un raspado con una paleta de madera, que luego fue extendida en un portaobjetos, fijada y realizada la tinción rápida de Papanicolau. Por otro lado, para la citología de base líquida, la muestra fue tomada con una espátula de plástico y fue sumergida en fijador hecho en

el laboratorio por 24 horas, luego se pasó a un tubo de ensayo donde fue sometida a varios procesos de centrifugación y decantación, luego el frotis se extendió en el portaobjeto se fijó mediante secado a temperatura ambiente durante 2-3 horas, se fijaron sumergiéndolo en alcohol al 95% durante 15 minutos y se tiñeron con tinción rápida de Papanicolau. Obtuvieron que la tasa de detección de anormalidad fue superior con la CBL con un 29,41%. La identificación de atipia celular por CBL fue más sensible (44%) en comparación con CC (34%) con especificidad similar (100%). El porcentaje de acuerdo entre ambos métodos fue del 77,28%. CBL utilizada en el estudio es una técnica fácil y rentable, así también supera las limitaciones de diagnóstico de la CC, sin embargo, merece un estudio adicional en su posible aplicación en el cribado del pre cáncer oral y el cáncer. La técnica usada en este estudio de la citología convencional es poco explícita, así como también el orden y el lugar de la toma de muestra de ambas técnicas, por lo que deja en ventaja a una técnica de la otra.

Reddy et al.⁶⁹, en Karnataka, India en 2015, realizaron un estudio para determinar la frecuencia de las lesiones de la mucosa oral y correlacionar la dosis-respuesta relación entre los usuarios que mastican tabaco de la provincia de Bengaluru Norte, India. La muestra fue de 901 personas, 554 (61,4%) eran hombres y 347 (38,5%) eran mujeres, de edades comprendidas entre los 18 y los 70 años, de bajos recursos, consumidoras de tabaco. Llenaron un cuestionario que recopilaba información relacionada al tipo, cantidad, duración, frecuencia y lugar de uso del tabaco en la cavidad oral, posteriormente fueron revisados clínicamente por 2 clínicos diferentes con espejos, gasas y buena iluminación en búsqueda de lesiones. Los resultados demuestran que el 55.8% (503) no revelaron cambios orales clínicamente detectables y entre 44.1% (398) presentaron cambios en la mucosa que fueron observables de los cuales 63.8% (254) eran hombres y 36.1% (144) eran mujeres. La probabilidad de desarrollar lesiones orales en los hombres con hábitos de tabaco fue de casi 1,19 veces la de las mujeres, el más común era mucositis oral 59,5% (236), seguido de fibrosis submucosa 22,8% (91), la leucoplasia 8% (32), reacción liquenoide 6,5% (26), cáncer oral 2,7% (11), y liquen plano 0,5% (2). Un número

significativamente elevado de fibrosis submucosa mostró una tendencia de aparición temprana y aumentó en número con la duración del hábito. El estudio estuvo limitado por el sesgo, primero por la información suministrada por el individuo y segundo porque los examinadores ya conocían el historial de hábitos del individuo antes del examen oral. Este estudio muestra que la masticación del tabaco es un predictor significativo de trastornos orales potencialmente malignos en esta población. La asociación compleja de pobreza, bajos niveles de educación, baja priorización de la enfermedad y prácticas socioculturales son responsables de una mayor incidencia de lesiones orales entre esta población de masticadores de tabaco. Además, se observó la relación dosis-respuesta con lesiones orales que puede ser una gran herramienta en la educación de los pacientes con respecto a los efectos adversos de los hábitos de tabaco.

Sekine et al.⁷⁰ realizaron un estudio piloto en el 2017, para explorar la precisión diagnóstica de la citología oral basada en el diagnóstico histológico. Para ello las muestras citológicas e histológicas se recolectaron retrospectivamente en la práctica clínica entre octubre de 2007 y noviembre de 2013. Utilizaron 327 casos que clasificaron en: negativo, lesión bordeante (-), lesión bordeante (+), neoplasia intraepitelial oral, carcinoma in situ (CIS), o Positivo. Los diagnósticos citológicos fueron clasificados como NILM (Negativo para Lesión Intraepitelial o Maligna), LSIL (lesión intraepitelial escamosa de bajo grado), HSIL (lesión intraepitelial escamosa de alto grado) o SCC (carcinoma escamoso). Los diagnósticos citológicos fueron clasificados como NILM (negativo para lesión intraepitelial o maligna), LSIL (lesión intraepitelial escamosa de bajo grado), HSIL (lesión intraepitelial escamosa de alto grado) o SCC (carcinoma escamoso). Los portaobjetos citológicos fueron evaluados por 10 expertos y fueron comparados con el estudio histopatológico. En 142 casos histológicamente negativos, el número de NILM, LSIL, HSIL y SCC y otros tumores malignos fue de 77 (54,2%), 47 (34,3%), 8 (5,6%) y 10 (7,0%), respectivamente. Entre 32 casos de lesiones bordeantes, el número de NILM, LSIL, HSIL y SCC y otros tumores malignos fue de 11 (34,3%), 11 (34,3%), 9 (28,1%) y 1 (3,1%), respectivamente. Además, en 4 casos de lesión bordeante (+), el número de

NILM, LSIL, HSIL y SCC y otros tumores malignos fue de 2 (50,0%), 0 (0,0%), 0 (0,0%), 2 (50,0%) respectivamente. Entre los 12 casos de OIN / CIS, el número de NILM, LSIL, HSIL y SCC y otros tumores malignos fue de 1 (8,3%), 2 (16,7%), 4 (33,3%) y 5 casos (41,7%) respectivamente. Entre los 137 casos con diagnóstico histológico de Positivo, el número de NILM, LSIL, HSIL y SCC y otros tumores malignos fue de 7 (5,1%), 22 (16,1%), 19 (13,9%) y 89 (65,0%), respectivamente. La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos y negativos positivos fueron 93,5, 50,6, 62,4 y 89,8%, respectivamente, cuando se supuso que el diagnóstico citológico de Negativo era NILM; fueron 77,8, 83,9, 81,0 y 81,1%, respectivamente, si se supone que el diagnóstico citológico de Negativo es NILM y LSIL. El número de casos de falsos positivos y falsos negativos diagnosticados con LSIL y HSIL puede indicar la dificultad en el diagnóstico citológico de lesiones limítrofes. Mientras que el valor predictivo negativo fue relativamente alto (89,8%) cuando el negativo citológico fue asumido como NILM solamente. Concluyeron que el examen histopatológico debe recomendarse en casos de diagnósticos citológicos HSIL y SCC.

2.2 Bases conceptuales

2.2.1 La Célula

Es una unidad autónoma y, a menos, parcialmente independiente, rodeada de una membrana que controla el paso de sustancias hacia el interior y exterior de la célula. Cada célula debe ser capaz de llevar a cabo esencialmente los mismos procesos: obtener y asimilar nutrientes, eliminar residuos, ser capaz de moverse y reproducirse⁷¹.

2.2.1.1 Características normales de las células

El tamaño y la forma celular de la mayoría de las células que constituyen el cuerpo de una planta o de un animal, miden entre 10-30 micrómetros de diámetro. La principal restricción al tamaño de la célula es la relación entre el volumen y la

superficie. La célula eucariota está constituida por una membrana plasmática, un núcleo, y citoplasma.

La membrana celular, plasmática o plasmalema, tiene un espesor de más o menos 10nm y está compuesta en forma características por un 45% de lípidos, un 45% de proteínas y un 10% de carbohidratos. La membrana celular no sólo es el límite ente la célula o su entorno, sino que también media el contacto y el intercambio entre el citoplasma de una célula y el medio circundante a través de estructuras de transporte. Posee una permeabilidad selectiva y contiene estructuras de reconocimiento de señales del ambiente así como estructuras para la conducción de las señales⁷².

El núcleo es un cuerpo grande, frecuentemente esférico, y por lo común es la estructura más voluminosa dentro de la célula eucariota. Está rodeado por la envoltura nuclear, constituida por 2 membranas concéntricas, cada una de las cuales es una bicapa lipídica. Estas dos membranas se fusionan creando pequeños poros nucleares, por donde circulan materiales entre el núcleo y el citoplasma. El núcleo desempeña 2 funciones fundamentales para la célula: lleva la información hereditaria que determina el tipo celular y asegura que las moléculas complejas que ellas requieren se sinteticen en cantidad y tiempo necesario⁷¹. En las preparaciones para microscopio óptico, los núcleos muestran una forma esférica u ovoide con un diámetro de aprox. 5-10, y contienen una estructura esférica más pequeña, el nucléolo, que sintetiza subunidades ribosómicas⁷³. Además, contiene cromatina, que es un complejo de ADN y proteínas, responsable de la basofilia característica del núcleo⁷⁴. Esta se clasifica en: heterocromatina y eucromatina, la heterocromatina corresponde a la zona condensada de cromatina con una tinción más intensa; desde el punto de vista genético es generalmente inactiva. Mientras la eucromatina se tiñe débilmente y se encuentra dispersa, contiene ADN metabólicamente activo, es decir, es el sitio donde se produce la síntesis de ARN⁷⁵.

El citoplasma, contenido viscoso de una célula, dentro de la membrana plasmática pero fuera del núcleo⁷⁶. La cantidad de citoplasma presenta notable variaciones en los distintos tipos de células, pero por lo general representa varias veces el volumen del núcleo. Aquí se llevan a cabo la mayoría de los procesos

metabólicos celulares, que son dirigidos por el núcleo. A la vez engloba numerosas estructuras especializadas, y organelas como mitocondrias, retículo endoplasmático, aparato de Golgi, las cuales tienen funciones específicas, contribuyendo al funcionamiento coordinado de la célula⁷⁷.

2.2.1.2 Características morfológicas de las células neoplásicas

El éxito de la citología es el diagnóstico precoz del cáncer, se basa esencialmente en el hecho de que los núcleos celulares con transformación atípica pueden ser correlacionados con diferentes grados de maduración citoplasmática lo que permite diferenciar distintos grados de displasia, y los estadios precancerosos⁷⁸.

Criterios de malignidad

De la citomorfología de las células descamadas de la superficie del epitelio puede inferirse sobre el grado de severidad de las lesiones anatómo - patológicas ubicadas en los estratos más profundos. Los criterios de malignidad se refieren en primer lugar a las modificaciones nucleares. Entre ellas cabe mencionar las siguientes:

1. Estructura atípica de la cromatina: criterio de mayor malignidad, estructura irregular de la cromatina en forma de grumos y alteraciones degenerativas del núcleo.
2. Hiperchromasia de la pared nuclear y formación de cromocentro: depósito de heterocromatina en la membrana nuclear produce una hiperchromasia irregular de la pared nuclear con engrosamiento de la membrana e intensas aglutinaciones en el interior del núcleo que ocasionan la aparición de cromocentros.
3. Hiperchromasia: se origina en un aumento de la heterocromatina.
4. Pleomorfismo nuclear: es la multiplicidad de aspectos del núcleo en lo que se refiere a tamaño y forma, como consecuencia de un aumento no coordinado de ADN se observan núcleos de diferentes tamaños, las variaciones de forma del núcleo consisten en la pérdida de la esfericidad, aparición de muescas y lobulaciones. Estas irregularidades se originan en

un aumento del intercambio de sustancias entre el núcleo y el citoplasma que incrementa los requerimientos metabólicos y exige un aumento de la superficie de intercambio.

5. Aumento absoluto del tamaño del núcleo: solo debe considerarse maligno cuando se presenta con otros criterios de malignidad ⁷⁸.
6. Aumento de la relación Núcleo Citoplasma: La relación entre el tamaño del núcleo y el del citoplasma en las células maduras normales varía entre 1:3 o 1:6. En los tumores malignos el núcleo es más grande en relación con el tamaño del citoplasma, siendo la relación 1:2 o 1:1 ⁷⁹.

2.2.2 Mucosa bucal.

La cavidad bucal, como toda cavidad orgánica que se comunica con el exterior, esta tapizada por una membrana mucosa de superficie húmeda, lo cual es aportado por las glándulas salivales, condición necesaria para el mantenimiento de la estructura normal de los tejidos ⁷².

La mucosa bucal, como toda mucosa, está integrada por dos capas de tejido estructural y embriológicamente diferentes: el epitelio o capa superficial, constituida por un tejido epitelial, de origen ectodérmico, y el corión o capa subyacente de tejido conectivo, de origen ectomesenquimático, denominada también lámina propia. Ambas capas están conectadas por la membrana basal ⁷².

2.2.2.1 Epitelio.

El tejido epitelial consiste en asociaciones de células muy unida entre sí formando láminas, las células epiteliales están unidas por medio de contactos celulares diversos, tienen una estructura polar, con una región apical, que forma la superficie libre y una región basal que limita con el tejido conjuntivo subyacente. Los epitelios son los primeros tejidos que se forman tanto desde el punto de vista filogenético, como desde el punto de vista ontogenético. Las funciones típicas de los epitelios están vinculadas con las funciones de las células epiteliales y no con la sustancia intercelular como el tejido conjuntivo, en los epitelios se produce un

recambio celular constante, es decir, que continuamente mueren células y al mismo tiempo hay una producción continua de células nuevas⁷².

2.2.2.2 *Epitelio de la cavidad bucal.*

El epitelio de la cavidad bucal es de tipo estratificado plano o pavimentoso. Puede ser queratinizado, paraqueratinizado o no queratinizado; según la localización presenta diferencias estructurales y funcionales. Se mantiene siempre húmedo y lubricado por acción de la saliva.

El epitelio estratificado plano queratinizado. Está constituido por tres tipos de poblaciones celulares:

- Población Intrínseca: propia del epitelio, formada por queratinocitos que representan 90% de la densidad celular.
- Población extrínseca: de origen ajeno al epitelio, formada por una población de células permanentes, reciben la denominación de células dendríticas y engloban a los melanocitos, las células de Merkel y las células de Langerhans, representan un 9%.
- Población transitoria: representa el 1% está formada por los granulocitos, linfocitos, y monocitos, que, ocasionalmente, infiltran el epitelio⁸⁰.

Población Intrínseca:

Queratinocitos: células del epitelio destinadas a queratinizarse. Sufren una migración desde las capas más profundas del epitelio hasta la superficie. Durante la citodiferenciación va experimentando cambios bioquímicos y morfológicos para convertirse, finalmente, en una escama eosinófila queratinizada (anucleada) que más tarde se descama y cae al medio bucal.

Los queratinocitos que integran el epitelio se disponen formando cuatro estratos:

1. Estrato basal o germinativo: está constituido por una única capa de células de forma cubica alta o cilíndrica. El núcleo es redondo u oval y el citoplasma es intensamente basófilo. Las células basales se conectan con la membrana basal mediante hemidesmosomas. En este estrato se observan figuras mitóticas y

comienza el proceso de renovación epitelial, en este estrato se encuentran los melanocitos y las células de Merckel

2. Estrato espinoso: está formado por varias hileras de queratinocitos. Las células que lo constituyen son poligonales, de núcleo redondo más o menos pequeño, de cromatina laxa, con citoplasma ligeramente basófilo, caracterizado por presentar abundantes tonofibrillas, a nivel de estrato espinoso encontramos las células de Langerhans.
3. Estrato granuloso: está constituido por dos o tres capas de células aplanadas o escamosas con un núcleo pequeño de cromatina densa. El citoplasma está lleno de gránulos de queratohialina intensamente basófilo. En el queratinocito granuloso comienza, asimismo, la síntesis de loricrina e involucrina, compuestos precursores de la futura membrana plasmática o envoltura celular de las células superficiales. Las células granulosas desarrollan una importante actividad sintética de proteínas de envoltura, lípidos, receptores y antígenos relacionados con la queratinización y, al mismo tiempo, en cinco o seis horas se prepara para la destrucción de sus organelas y de su núcleo hasta convertirse en un elemento del estrato corneo.
4. Estrato corneo: se caracteriza por estar constituido por células planas, sin núcleo evidente y con citoplasmas fuertemente acidófilos. Las células cornificadas carecen de orgánulos y están compuestas por filamentos agrupados de modo compacto, que se forman a partir de los tonofilamentos de queratina, recubiertos por material proteico procedente del gránulo de queratohialina. Las uniones intercelulares se modifican, lo que facilita la descamación celular. A este nivel han desaparecido los desmosomas y las células entran en contacto unas con otras mediante interdigitaciones⁸⁰

Membrana basal

La unión entre el epitelio y el tejido conjuntivo se realiza mediante la membrana basal, estructura que, además de prestar adhesión mecánica, cumple con múltiples funciones, entre las que destaca su actuación como guía o almacén de

las células epiteliales en proliferación durante el mecanismo de reparación o regeneración tisular. Observada con microscopía óptica, dicha región consiste en una banda acelular homogénea y estrecha que se tiñe bien con tinciones específicas para detectar glucoproteínas (PAS)⁸⁰.

Lámina propia o corion

Es una lámina de tejido conectivo de espesor variable que confiere sostén y nutrición al epitelio. Estas funciones se ven reforzadas por la presencia de papilas que llevan vasos y nervios. Las papilas varían de longitud y anchura de acuerdo a la zona. El tejido conectivo puede ser laxo, denso o semidenso según la región. Su distribución está relacionada con las necesidades específicas de diversas regiones de la cavidad bucal. Como todo tejido conectivo presenta células, fibras y sustancia fundamental. Entre las células podemos mencionar: fibroblastos, macrófagos, leucocitos, células cebadas y células plasmáticas. Las fibras colágenas resisten las fuerzas de tracción y tensión y evitan deformaciones en la mucosa. También se observan fibras reticulares que refuerzan la pared de vasos sanguíneos. En la sustancia fundamental existe gran cantidad de glucosaminoglicanos que retienen el agua y permiten la difusión de nutrientes desde los vasos hacia los epitelios⁸⁰.

Submucosa

Está formada por tejido conectivo laxo destinado a unir la mucosa a los tejidos subyacentes. La submucosa puede existir como una capa separada y bien definida, o faltar cuando el corion está firmemente adherido a la estructura ósea subyacente. Hay submucosa en las zonas que requieren movimiento y que no están expuestas directamente al choque masticatorio. En esta capa se pueden encontrar glándulas salivales, vasos y nervios, y también tejido adiposo.

Características clínicas en relación con la estructura histológica:

De las variaciones de los tres componentes estructurales, epitelio, corion y submucosa, dependen el color y el aspecto de la mucosa bucal.

El color depende esencialmente de tres factores:

- Espesor y grado de queratinización del epitelio.
- Densidad del tejido conectivo.
- Presencia de pigmentación melánica.

El aspecto está condicionado por la textura del tejido conectivo y por la presencia o no de papilas que levantan el epitelio que las reviste y que se denominan papilas delomorfas. Cuando se estudia la mucosa de la cavidad bucal, debemos tener en cuenta: tipo de epitelio, densidad y estructura de corion y existencia o no de submucosa⁸⁰

2.2.3 Estructura morfológica de la mucosa bucal

Varía por la adaptación funcional a la influencia mecánica que actúa sobre ella en las diferentes regiones de la cavidad bucal. Sobre la base de estos criterios topográficos y funcionales podemos dividir la mucosa bucal en 3 tipos:

Mucosa de revestimiento: cumple la función de protección. El epitelio es de tipo queratinizado, con un corion laxo o semi laxo y presenta una submucosa bien definida. Es distensible y se adapta a la contracción y relajación. Este tipo de mucosa se encuentra en la cara interna del labio, paladar blando, cara ventral de la lengua, mejillas y piso o suelo de la boca⁸⁰.

Mucosa masticatoria: está sometida directamente a las fuerzas intensas de fricción y presión originadas por el impacto masticatorio. Suele estar fija al hueso y no experimenta estiramiento. El epitelio es queratinizado y paraqueratinizado con numerosas crestas epiteliales y corion denso o semi-denso. Este tipo de mucosa corresponde a la encía y el paladar duro⁸⁰.

Mucosa especializada: recibe este nombre porque aloja botones gustativos intraepiteliales, que tiene una función sensitiva destinada a la recepción de los estímulos gustativos. Esta variedad se observa en la cara dorsal de la lengua⁸⁰.

2.2.4 Factores de riesgo a cambios celulares

Son diversos los factores de riesgo evaluados. Los orígenes, o las causas del cáncer son multifactoriales; los factores biológicos y genéticos resultan inevitables, pero es importante que se conozcan los externos para inducir a la realización de pruebas de detección de cáncer periódicamente. Los cánceres de mayor prevalencia al nivel internacional están asociados a factores ambientales y estilos de vida. Aquellos factores relacionados con la conducta deben ser objeto de acciones de educación y promoción de salud, que contribuyan a cambiar el estilo de vida y, con ello, independiente de la predisposición genética, disminuir la morbilidad y mortalidad por cáncer⁸¹. El conocimiento y el control de los factores de riesgo del cáncer bucal son de gran importancia para la práctica estomatológica y médica. Se considera factor de riesgo cualquier elemento que pueda aumentar las posibilidades de una persona para desarrollar alguna enfermedad. Aun cuando los factores de riesgo en algún momento desencadenen una enfermedad, éstos no necesariamente causan la enfermedad. Muchos pacientes con uno o más factores de riesgo nunca desarrollan cáncer mientras otros, lo desarrollan sin tener factores de riesgo conocidos⁹

2.2.4.1 Tabaco

El tabaco es el principal factor de riesgo asociado al desarrollo de lesiones premalignas y del cáncer oral, su evidencia está ampliamente documentada⁸². Fumadores tienen 5 veces más posibilidades de desarrollar carcinoma de células escamosas que personas que no fuman⁸³. El uso del tabaco en todas sus formas conlleva riesgos, especialmente las personas que tienen el hábito de fumar invertido (con la candela hacia dentro)^{16,82}. Los componentes más carcinogénicos del tabaco son la N-nitroso-nor-nicotina, hidrocarburos aromáticos polinucleares y el polonium, siendo perjudiciales localmente y favoreciendo la absorción de sustancias

carcinógenas^{82,84}. Así mismo la aparición de cáncer está relacionada con la cantidad de tabaco y el tiempo que ha consumido⁸⁴.

Además de todo lo anterior se ha reportado una importante relación entre los cambios celulares y el hábito tabáquico con el alcohol⁸², actuando como efecto sinérgico⁸⁵.

2.2.4.2 Alcohol

El etanol puro es asociado a sustancias carcinógenas que actúan como desencadenantes de la acción tóxica del alcohol. La presencia de etanol puede estar asociada con cambios citológicos carcinogénicos en la mucosa oral⁸⁶. El conocimiento sobre sus posibles efectos carcinogénicos ha llevado a eliminar el componente de los enjuagues, algunos de los cuales pueden poseer hasta 25% de alcohol. De igual manera, hay estudios que relacionan el cáncer oral con cirrosis hepática. La baja incidencia de cáncer oral en mormones y adventistas del séptimo día, que no consumen alcohol ni fuman, también justifica esta idea.⁸⁷ Así mismo, el alcohol ejerce un efecto cáustico aumentando la permeabilidad de la mucosa oral y permitiendo el paso de otros carcinógenos como el tabaco⁸².

2.2.4.3 Chimo

Es un producto derivado del tabaco que causa adicción física y psíquica por la nicotina que contiene⁸⁸. Su consumo se basa en la colocación de pequeñas cantidades detrás de los dientes anteriores produciendo una salivación abundante que obliga al consumidor a escupir constantemente.

El consumo de chimó tiene efectos a nivel de la cavidad bucal que pueden ir desde una vasoconstricción transitoria en la zona, manchas y abrasiones dentarias, recesiones gingivales hasta la aparición de lesiones pre-cancerosas como leucoplasias. En casos particulares puede llegar a desarrollarse un carcinoma espino celular, esto dependiendo del tiempo de ingesta de este producto, de igual manera clasifican a corto, mediano y largo plazo los efectos nocivos de esta práctica⁸⁹.

Estudios demuestran que existe una relación directamente proporcional entre los cambios celulares y la cantidad de chimó consumida diariamente ⁷

2.2.4.4 *Dieta (hábitos de consumo)*

El consumo de bebidas calientes puede producir inmediatamente cambios en las células de la mucosa bucal, de leve a severo⁹. Los alimentos calientes y picantes son los factores de riesgo más comunes después del alcohol y el tabaco^{90,91}. El consumo de alimentos muy calientes podría causar daño en la mucosa, permitiendo en parte la acción de estos factores carcinogénicos sobre la mucosa¹⁰; estudios afirman que este factor aumenta la probabilidad de que lesiones bucales se desarrollen en personas mayores de 60 años⁹².

2.2.4.5 *Sexo*

Se considera que los hombres están más expuestos a los factores de riesgo del cáncer oral, como fumar, beber y la luz solar. Sin embargo, este comportamiento social está cambiando; las mujeres están participando en actividades de riesgo más a menudo. Por lo tanto, las diferencias en las incidencias de malignidad entre hombres y mujeres están disminuyendo. A pesar de ello, un meta análisis relacionado con la prevalencia de cambios potencialmente malignos publicado en el 2018, muestra que el patrón aún se mantiene. Así que la diferencia en la distribución de género puede estar influenciada por los hábitos culturales y socio-económicos del país⁹³.

2.2.4.6 *Edad*

Algunos autores creen que edades avanzadas son más susceptibles ya que hay el aumento otras patologías sistémicas, envejecimiento fisiológico de mucosa oral, disminución de la función glandular tanto por el aumento de edad como por el mayor consumo de medicamentos relacionados con la hiposalivación⁹⁴. Así mismo, se han encontrado niveles de nitrito salival (normalmente altos en pacientes con carcinoma) incrementados en grupos de mayor edad¹⁰. Sin embargo, casos en edades menores de 40 años también se han visto influenciados por presencia de VPH de alto riesgo

(serotipos 16 y 18)⁸², siendo su sobrevivencia mayor que el grupo anterior². Se hace hincapié en la importancia de las inspecciones de rutina de la mucosa oral a fin de mantener una buena salud bucal en la etapa de prevención⁹⁴.

2.2.5 Lesiones Potencialmente Malignas de la cavidad bucal

Es la terminología acordada por un grupo de expertos en el área y colaboradores de la OMS, donde la definen como una familia de alteraciones morfológicas (lesiones y enfermedades de carácter sistémico) que tienen un riesgo aumentado de padecer carcinoma oral de células escamosas, es decir, indicadores de riesgo dentro de la cavidad oral, que no necesariamente puede surgir a partir de una lesión preexistente^{16,87}.

2.2.5.1 Leucoplasia

Son placas blancas de riesgo cuestionable, la lesión no tiene una histología específica. Puede mostrar atrofia o hiperplasia (acantosis) y puede o no mostrar displasia epitelial. Se debe tener en cuenta que la displasia epitelial oral no tiene una apariencia clínica específica y el término no debe utilizarse como descriptor clínico. Tiene un patrón de comportamiento variable pero con una tendencia apreciable a la transformación maligna.

Se reconocen dos tipos clínicos principales de leucoplasia: homogénea y no homogénea. La distinción de estos es básicamente clínica, basada en el color de la superficie y las características morfológicas (grosor), y tiene cierta influencia en el resultado o pronóstico. Las lesiones homogéneas son uniformemente planas, delgadas y exhiben grietas superficiales de la queratina superficial. El riesgo de transformación maligna es relativamente bajo. Las lesiones no homogéneas: mixtas (leucoeritroplasia), nodulares y verrugosas proliferativas, conllevan un riesgo mucho mayor de transformación maligna, en especial esta última^{16,87}.

La leucoplasia está asociada al tabaco; su diagnóstico diferencial se hace cuando no está asociada a otra condición o enfermedad sistémica¹⁶.

2.2.5.2 Eritroplasia

Son parches rojo brillante. La superficie suele apreciarse como un velo en su textura y con márgenes muy bien definidos. Las lesiones de este tipo no forman placas (a pesar de que su término “eritroplakia” induce a confusión), son blandas o deprimidas por debajo del nivel de la mucosa de alrededor. La eritroplasia es infrecuente en la cavidad oral, pero su presencia conlleva el riesgo más alto de transformación maligna⁹³, y casi la mitad de las lesiones son ya malignas en la primera biopsia. Las lesiones de eritroplasia suelen mostrar displasia epitelial, que puede llegar a ser grave. En otros casos puede encontrarse una microinvasión maligna o una invasión real. El epitelio es atrófico, y esto, junto con la inflamación, explica el color rojo clínicamente⁸⁷. Tiene una alta incidencia en fumadores.

2.2.5.3 Estomatitis Nicotínica (por hábito de fumar hacia dentro)

Es un trastorno endémico específico de las poblaciones que fuman con el extremo encendido del cigarro dentro de la boca, lo que produce lesiones rojas, blancas o mixtas en el paladar. No hay dificultades para definir el diagnóstico de esta lesión una vez que se observa este hábito particular en una comunidad individual. Todos los cambios relacionados con este hábito se notan en el paladar¹⁶ y la lengua. Es altamente malignizable⁹⁵.

2.2.5.4 Fibrosis Oral Submucosa (FOS)

Es un trastorno crónico caracterizado por la fibrosis de la mucosa del revestimiento del tracto digestivo superior que involucra la cavidad oral, la orofaringe y con frecuencia el tercio superior del esófago, con predilección en la cuarta década de la vida. Se asocia con ciertos hábitos orales relacionados con el uso del mascado de areca/betel⁹⁶. Excepto en las formas tempranas de la enfermedad, la presentación clínica es característica debido a la fibrosis de la lámina propia y la submucosa con una pérdida creciente de movilidad tisular. Diferentes poblaciones pueden mostrar diferentes sitios de participación dentro de la boca. Las formas de presentación clínica van desde sensación de ardor, vesículas, blanqueamiento de la mucosa, hasta bandas

fibrosas en la mucosa, limitación de la apertura de la boca, y finalmente estrechamiento del orificio orofaríngeo con distorsión de la úvula con rigidez en mucosa y lengua. La FOS está bien reconocida como un trastorno potencialmente maligno¹⁶.

2.2.5.5 *Queilitis actínica*

Es un trastorno de tipo inflamatorio asociado a la exposición a rayos UV de manera crónica⁹³, afecta el borde del bermellón, sobre todo en el labio inferior. Dentro de los signos clínicos que pueden indicar cambios malignos están: úlceras recurrentes que no cicatrizan; aspecto parcheado, color rojo y blanco con la pérdida del borde del bermellón; costras y descamación persistente. El progreso de las placas queratósicas palpables y engrosadas con induración eventualmente en uno o más de ellos pueden ser claramente delimitados o pueden ulcerarse. Los hallazgos histopatológicos son muy variados e incluyen: el aumento de espesor de la capa de queratina (hiperqueratosis, paraqueratosis u ortoqueratosis), atrofia o engrosamiento del estrato espinoso, espigas epiteliales en forma de gota están a menudo presentes, pero la membrana basal está intacta, cambios en el tejido conjuntivo, inflamación perivascular, cambios basófilos del tejido conectivo, aumento de la actividad mitótica, atipia citológica y displasia epitelial⁹⁷.

2.2.5.6 *Liquen Plano*

Es un trastorno inflamatorio crónico que demuestra alguna patología inmunológica. Es una condición inmune mediada por células de etiología desconocida, en la que los linfocitos T se acumulan debajo del epitelio de la mucosa oral y aumentan la tasa de diferenciación del epitelio escamoso estratificado, que produce hiperqueratosis y eritema con o sin ulceración. El liquen plano y las lesiones liquenoides tienen aspectos característicos, pero no patognomónicos, clínicos e histológicos, requiere biopsia para su diagnóstico final¹⁶. Hay liquen de tipo típico y atípico. El primero se presenta con lesiones más o menos estables, pueden mejorar e incluso desaparecer; el atípico es potencialmente maligno, clínicamente puede

presentarse en forma de ampollas (erosivo/ampollar) que se erosionan y que en algunas circunstancias el exudado fibrinoleucocitario presente invade la lesión en forma exofítica, en cuyo caso se manifiesta como una vegetación (liquen vegetante). Puede generar una marcada hiperparaqueratosis (liquen hipertrófico o leucoplasiforme) o generar un adelgazamiento del epitelio (liquen atrófico) ⁹⁶.

2.2.5.7 *Lupus Eritematoso*

Es una enfermedad autoinmune crónica mucocutánea de etiología desconocida. La distinción clínica del liquen plano y la eritroplasia a veces puede ser difícil. La transformación maligna se reporta cuando afecta el labio y los sitios intraorales. ¹⁶

2.2.6 **Cáncer bucal**

Es una neoplasia maligna desarrollada a partir de la mucosa oral, se habla de neoplasia cuando se produce una proliferación incontrolada de células somáticas producto de un cambio irreversible en las mismas ⁸². A nivel mundial el cáncer bucal ocupa el octavo lugar de incidencia en hombres y decimocuarto en mujeres, representando el 3% de todos los cánceres en el mundo, siendo 94% carcinoma epidermoide ⁹⁸.

Puede presentarse por dos vías:

- “De novo”, desarrollándose directamente a partir de mucosa sana.
- Siguiendo la secuencia: estado precanceroso (displasia epitelial) ⁸².

2.2.6.1 *Carcinoma espinocelular*

El carcinoma de células escamosas, espinocelular o epidermoide, denominado así ya que se inicia en las células escamosas de los epitelios de piel, revestimiento de los órganos huecos del cuerpo y en la mucosa del tracto respiratorio y digestivo ⁸². Clínicamente su forma más frecuente es una lesión ulcerovegetante infiltrativa, de bordes redondos y elevados, contorno irregular, superficie rugosa, base indurada a la palpación y con tendencia al sangrado espontáneo o al roce ¹¹.

Independientemente de su localización, los carcinomas epidermoides de la cavidad oral comparten caracteres comunes morfológicos, histopatológicos y evolutivos. Existen diferentes formas clínicas, más o menos frecuentes y agresivas según los casos⁴. Se distinguen algunas formas características:

- Forma ulcerosa: Borde más o menos irregular, indurado, con relieve, a veces evertido, cuya cara externa está recubierta por una mucosa de aspecto sano, incluso congestivo, mientras que la cara interna, cruenta, se prolonga con el fondo de la ulceración, ligeramente vegetante o exofítica.
- Forma fisuraria: Variante de la forma ulcerosa. Se presenta como una grieta, que puede ser difícil de ver y adopta un aspecto en «hojas de libro»; la ulceración se esconde en los repliegues mucosos.
- Forma en superficie: Caracterizada por una extensión amplia y una evolución lenta que contrasta con la frecuencia de las recidivas, a veces de evolución rápida.
- Forma vegetante: Aspecto vegetante, más o menos grueso, que sobresale de la mucosa sana, puede tener mucho relieve o ser exofítico. El tejido que circunda la lesión se extiende por encima de la mucosa vecina, con un pedículo de implantación más o menos ancho; la induración profunda es más extensa que la base.
- Forma nodular: poco frecuente que generalmente corresponde a un carcinoma glandular en una zona rica en glándulas salivares accesorias (velo de paladar, piso de boca, etc.). Aparece bajo una mucosa sana pero su dureza y el carácter infiltrante llaman la atención. El nódulo sólo ulcera la mucosa cuando alcanza un estadio voluminoso⁴.

La detección precoz de los cánceres de la cavidad bucal y de las lesiones de riesgo es fundamental para el pronóstico de los pacientes. La exploración física de la cavidad bucal forma parte de las funciones de los profesionales⁴ una exploración oral sistemática a partir del conocimiento de todas las alteraciones potencialmente

malignas, que permita un diagnóstico precoz de cualquier lesión premaligna o con tendencia a malignizarse¹¹.

A continuación, se presenta un esquema de exploración física completa y sistemática para ser realizado al paciente:

1. Examen de los labios. La superficie externa debe estar libre de grietas o úlceras.
2. Examen del aspecto interno labial.
3. Examen de las cadenas ganglionarias de forma rutinaria: submentoniana, cadenas submandibulares, cadenas cervicales y cadenas yugulodigástricas.
4. Visión global, atendiendo especialmente al tejido gingival y al vestíbulo.
5. Examen de mucosa yugal.
6. Piso de boca (zona de alto riesgo de malignización).
7. Examen de la superficie ventral de la lengua.
8. Examen de la superficie dorsal de la lengua.
9. Bordes laterales de la lengua (tomar la lengua con una gasa).
10. Visualización del paladar.
11. Retirar prótesis.
12. Examen del velo paladar y pilares posteriores.
13. Examen de orofaringe.

El diagnóstico definitivo de cáncer oral conlleva la realización de una biopsia para hacer un estudio anatomopatológico. Algunas herramientas utilizadas como coadyuvante a la biopsia son la citología exfoliativa, la tinción con azul de toluidina o la tinción con solución de lugol que ayudan a delimitar la zona idónea de resección⁸².

2.2.7 Azul de toluidina

Es un colorante acidófilico y metacromático que pertenece al grupo de las tiacidas. Su característica principal es que tiñe selectivamente componentes ácidos de los tejidos, tales como sulfatos y radicales fosfatos incorporados en el ADN y ARN de las células. Por ello se utiliza para hacer tinciones nucleares "in vivo" basado en que las células displásicas y anaplásicas contienen cuantitativamente mayor cantidad de ácidos nucleicos y por tanto retienen la tinción^{41,61}. Así mismo, es capaz de revelar alteraciones citológicas no visibles clínicamente para detección de lesiones malignas y premalignas⁵⁷. La sensibilidad de la prueba es alta.⁴⁰

2.2.7.1 Fundamento

La técnica de aplicación consiste en aplicar en primer lugar ácido acético al 1% durante 30 segundos, a continuación, se aplica azul de toluidina al 1% durante 1 minuto, y, finalmente se vuelve a aplicar ácido acético al 1% durante 30 segundos. Una tinción es considerada positiva si adquiere una coloración azul oscuro, tanto si se tiñe la totalidad de la lesión como si sólo lo hace una parte de la misma⁶¹.

2.2.7.2 Usos

- Técnica adjunta al examen clínico que pueden utilizarse para la detección precoz de lesiones potencialmente malignas de la cavidad bucal⁴⁰.
- Guía para determinar el sitio donde realizar la biopsia, delimita márgenes de una lesión⁴⁰.
- Ayuda a monitorear lesiones sospechosas durante periodos prolongados⁴¹.

2.2.8 Citología

2.2.8.1 Líquida

La citología en base líquida es un método que permite la evaluación de una muestra que se toma mediante un cepillo cervical que puede remover células y

simultánea y posteriormente disolverla en un medio líquido de preservación para luego realizar la transferencia del material a una lámina en monocapa⁹⁹.

En las preparaciones de base líquida, la muestra y el dispositivo de recolección se transportan en un recipiente que contiene un líquido conservador. Eso permite la inmediata fijación de las células. Esta técnica permite obtener preparaciones con abundancia de células dispersas en una capa fina y homogénea. La Sangre, inflamación y mucus quedan reducidos y distribuidos por toda la preparación⁹⁹. El fondo claro que así se obtiene aumenta la sensibilidad y la calidad. Comparado con los frotis convencionales, el uso de preparaciones de base líquida ha permitido reducir considerablemente el número de preparaciones insatisfactorias o satisfactorias pero limitadas, lo que disminuye el número de resultados falsos negativos^{5,99}.

Esta técnica presenta algunas desventajas en lo que se refiere a los equipos utilizados, pues implica más costos, tiempo de preparación técnica, mantenimiento y transporte de líquidos⁵.

2.2.8.2 *Exfoliativa*

La citología exfoliativa oral se define como el estudio e interpretación de los caracteres de las células que se descaman, natural o artificialmente, de la mucosa oral. Consiste en observar al microscopio óptico la morfología de las células epiteliales superficiales después de su toma, fijación y tinción. Es una técnica sencilla, no agresiva, relativamente indolora y bien aceptada por los pacientes, por lo que podría ser útil en el diagnóstico precoz del cáncer oral^{53,100}.

2.2.8.2.1 *Fundamento.*

El estudio citológico se basa en la posibilidad de diferenciar células alteradas obtenidas de un tejido. Su método es sencillo e incruento, pero necesita de un especialista para su interpretación. El hecho de que las células malignas disminuyen en su cohesión y se desprenden fácilmente, ha hecho su uso frecuente en la detección de cáncer genital femenino. En los extendidos, el citólogo siempre valora el tamaño y morfología de las células, considerándose criterios de malignidad la aparición de

células anaplásicas en el frotis, estas células se caracterizan por variaciones en su tamaño y modificaciones estructurales en cuanto al tamaño del citoplasma y núcleo, suelen describirse como células involutivas, que adoptan características semejantes a las embrionarias¹⁰¹.

2.2.8.2.2 *Indicaciones*

- Se utiliza para estudiar lesiones cuyo aspecto clínico, evolución y comportamiento no justifica la biopsia, sin embargo plantean una duda para el diagnóstico¹⁰²
- Indicada para estudiar lesiones erosivas, ulceradas o rojas.
- Orienta el diagnóstico de enfermedades vesículo-ampollares (pénfigo, virus herpes tipo I y varicela zoster) micosis (candidiasis o micosis profundas), cáncer bucal (detección de células anaplásicas)
- Sirve para controlar lesiones tratadas, permitiendo detectar recidivas precoces¹⁰¹

2.2.8.2.3 *Contraindicaciones*

- La citología exfoliativa no está indicada cuando el cáncer es evidente. Por presentar datos clínicos de lesión maligna como son tiempo de evolución corto, aspecto de necrosis, áreas hemorrágicas, linfadenopatía o pérdida de peso, entre otros; estos pacientes deben remitirse al especialista para el diagnóstico definitivo y plan de tratamiento, ya que las demoras innecesarias pueden inducir diseminación local o metástasis.
- No se debe realizar frotis citológico en lesiones o masas de localización profunda sin comunicación con la superficie
- En lesiones ulcerativas cuyos fondos presentan abundante necrosis o se encuentran sangrantes¹⁰².
- No sustituye en ningún caso a la biopsia clásica⁵³.

2.2.8.2.4 *Ventajas*

- Puede realizarse fácilmente en la cavidad bucal debido a su gran accesibilidad.
- Es método de ejecución rápida, simple e indolora.
- El paciente se encuentra libre de tensión y coopera para realizar el procedimiento.

- El material necesario para su realización es mínimo.
- La preparación de la muestra se obtiene con facilidad¹⁰².

2.2.8.2.5 *Desventajas.*

- Este método no permite un diagnóstico definitivo, ya que solo se puede interpretar la presencia o ausencia de células malignas, sin determinar el tipo de lesión.
- Si el diagnóstico resulta positivo porque presenta células alteradas morfológicamente, obliga a la realización de una biopsia que confirmará la presencia de una neoplasia maligna, su tipo y grado de diferenciación celular.
- No tiene valor diagnóstico en lesiones hiperqueratósicas, ya que en esta solo se aprecia la presencia de queratina.
- Un informe citológico negativo no descarta el cáncer, por lo tanto, está indicado en lesiones sospechosas la repetición y nueva observación del frotis.

2.2.8.2.6 *Procedimiento de toma de muestra.*

Se realiza la toma con un cepillo de diseño particular, *citobrush*, que permite penetrar en el espesor de la mucosa y recoger material representativo de las lesiones. Se extiende la muestra en un portaobjeto limpio, se fija y posteriormente se tiñe. Este método ha sido diseñado para que extraiga células desde la capa superficial a la basal del epitelio, y de ese modo permita la detección de aquellas que son anómalas⁵³.

2.2.8.2.7 *Criterios citológicos de diagnóstico.*

Se pueden clasificar de la siguiente manera:

- Criterios directos: se relacionan con la forma, volumen y estructura celular, es decir, anaplasia de la célula.
- Criterios Indirectos: Sangre - hemorragia, linfocitos, macrófagos, polimorfonucleares, colonias o agrupamientos celulares atípicos¹⁰¹.

2.2.8.2.8 *Lectura de muestras.*

Resultado de la coloración

1. Las células epiteliales superficiales se tiñen de rosado.
2. Las células epiteliales profundas se tiñen de verde, morado y violeta.
3. Las células leucocitarias se tiñen: el citoplasma de azul y el núcleo de negro.
4. Bacterias, hongos y cuerpos extraños se tiñen de azul oscuro.
5. Glóbulos rojos y hemorragia se tiñen de rosa intenso¹⁰¹.

Resultados e interpretación de los informes

a. Clasificación de Papanicolaou “Clases”

- Clase I: es considerada negativa “Células normales”
- Clase II: células normales con reacciones inflamatorias.
- Clase III: reacciones inflamatorias más intensas, células normales, células atípicas aisladas o en colonias. Se considera sospechosa e indicativa de displasia.
- Clase IV: atipias, hemorragias, reacciones inflamatorias severas, criterios indirectos de malignidad. Indica carcinoma in situ
- Clase V: hemorragia marcada, presencia de células anaplásicas, indica carcinoma invasor ¹⁰¹.

b. Clasificación de Ayre “Grados”

- Grado 0: Normal.
- Grado I: Inflamatorio.
- Grado II: Displasias.
- Grado III: Carcinoma ¹⁰¹.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Alcance y diseño de investigación.

3.1.1 Alcance de investigación.

Según Hernández et al, el alcance de la investigación descriptiva consiste en definir fenómenos, detallar como son y cómo se manifiestan. Busca especificar las propiedades, las características y los perfiles de personas, grupos, comunidades, procesos, objetivos o cualquier otro fenómeno que se someta a un análisis¹⁰³. En esta investigación se describieron los cambios potencialmente malignos en cada una de las citologías tomadas de mucosa bucal clínicamente sana de pacientes que acudieron al ambulatorio El Llano, del estado Mérida – Venezuela.

3.1.2 Diseño de investigación.

Según Ramón-Torrell, es un estudio de diseño observacional, descriptivo de corte transversal. Observacional ya que se constató lo que ocurre sin intervenir sobre ninguno de los factores observados. Descriptivo porque permitió ver la frecuencia de una característica en un grupo y su distribución según la persona, lugar y tiempo. Transversal o de prevalencia porque fue en un momento único dado en el tiempo¹⁰⁴.

En esta investigación se observó y se describió la frecuencia de los cambios citológicos potencialmente malignos en pacientes con mucosa bucal clínicamente sana que acudieron a consulta odontológica en el ambulatorio El Llano, del estado Mérida – Venezuela. Lo cual se realizó entre mayo y agosto del 2018, con una toma de muestra en un momento único, sin haberles realizado ninguna intervención previa.

3.2 Población y muestra

3.2.1 Población

La población de la investigación, de acuerdo a las posibilidades y criterios de los investigadores, estuvo representada por los primeros 80 pacientes (unidades de estudio) adultos sanos (18-63 años según OMS) que acudieron a consulta odontológica en el ambulatorio El Llano, del estado Mérida – Venezuela, quienes presentaban mucosa bucal clínicamente sana y sistémicamente sanos.

3.2.1.1 Criterios de exclusión

- Pacientes con historia de lesión maligna o premaligna.
- Pacientes previamente sometidos a quimioterapia o radioterapia.
- Pacientes con aparatología fija (ortodoncia).
- Pacientes alérgicos al ácido acético y/o azul de toluidina.

3.3 Variables

Las variables objeto de estudio corresponden a los cambios citológicos potencialmente malignos, que se midieron a partir de una encuesta y muestras citológicas tomadas de mucosa bucal clínicamente sana en pacientes que acudieron a la consulta odontológica del ambulatorio El Llano, del estado Mérida – Venezuela.

Dichas variables son:

Cualitativa ordinal

- Hallazgos citológicos (clasificación de Papanicolau).

Cualitativa nominal

- Factores de riesgo.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

En este estudio se emplearon las técnicas de recolección de datos mediante la observación y la encuesta. La observación inicialmente fue estructurada, directa a través de una guía de observación para realizar el examen clínico utilizando la ficha clínica de la Cátedra de Estomatología de la Facultad de Odontología de Universidad de los Andes (Anexo 1), la cual tiene un orden de revisión de 7 estructuras bucales con el fin de determinar la mucosa clínicamente sana. Por otra parte, se utilizó la técnica de encuesta, para lo cual se utilizó parte de un instrumento, elaborado y validado previamente⁵⁸, de tipo cuestionario comprendido por una sección de datos personales, seguida de un conjunto de 7 preguntas cerradas para determinar los factores de riesgo del paciente (Anexo 2).

Seguidamente, se reevaluó el área bucal para determinar la zona de toma de muestra citológica y luego obtener el frotis celular, se realizó una observación no estructurada, indirecta y asistida técnicamente mediante microscopio óptico, reportando el resultado en una ficha citológica (Anexo 3). La recolección de datos fue realizada por los investigadores, la observación por microscopio estuvo asistida por un especialista en el área.

3.5 Equipos e instrumentos

- Barreras de protección (guantes, tapabocas, gorro y bata).
- Sillas odontológicas, con su respectiva fuente de luz.
- Baja lenguas.
- Clips.
- Ácido acético al 1%.
- Azul de toluidina.
- Laminas porta objetos.
- *Citobrush*.

- Fijador.
- Porta laminas (Ver apéndice B).
- Hematoxilina de Harris.
- Alcohol al 99%.
- Coloración de Pap – Mart.
- Xilol.
- Estufa.
- Martex.
- Microscopio óptico.

3.6 Procedimiento

3.6.1 Fase I: Calibración

Para asegurar la viabilidad y confiabilidad de esta investigación al manejar los materiales que se utilizaron durante el proceso de la misma se realizó la calibración de los examinadores con una persona especialista en el área, la cual se realizó en el área de anatomía patológica del Instituto Hospital Universitario de los Andes (IHULA).

3.6.2 Fase II: Selección de los pacientes

Se acudió al servicio de odontología del ambulatorio El Llano del estado Mérida donde se realizó la recepción de los pacientes, a quienes se les explicó el alcance de la investigación y se les solicitó su consentimiento de participación; siguiendo los parámetros de la Declaración de Helsinki. Cumpliendo con los criterios de inclusión, a estos pacientes se les realizó un examen clínico para determinar que presentaban la mucosa bucal clínicamente sana. (Ver apéndices C, D)

3.6.3 Fase III: Aplicación del protocolo

Una vez que el paciente estuvo de acuerdo con la investigación, habiendo respondido al cuestionario, y firmado el consentimiento informado se procedió a la toma de citología exfoliativa con el siguiente procedimiento:

- Se le pidió al paciente que se lavara la boca con agua, luego se le indicó que mantuviera en boca 10ml de ácido acético al 1% por 30 segundos, seguidamente mantuviera en boca 10 ml de azul de toluidina por 1 minuto y luego se repitió el ácido acético al 1% por 30 segundos.
- Se tomó la muestra de la zona más teñida con la ayuda de un *citobrush* estéril, realizando un movimiento de arrastre, tratando de no causar hemorragia. (Ver apéndice E)
- Se extendió la muestra en un portaobjeto limpio, desengrasado y rotulado con los datos del paciente. (Ver apéndice F)
- Las muestras se fijaron y se almacenaron en los porta laminas para su posterior procesamiento. (Ver apéndice G).

3.6.4 Fase IV: Procesamiento y análisis de la muestra

El procesamiento de las muestras llevó una serie de pasos que consisten en:

- Lavado de las láminas.
- Coloración con Hematoxilina de Harris (colorante nuclear) por 3 minutos.
- Lavado con agua corriente.
- Lavado con Alcohol al 99%.
- Se dejaron secar por dos minutos.
- Coloración de Pap-Mart (colorante citoplasmático) por 3 minutos.
- 4 lavados con Alcohol al 99% para eliminar el exceso de colorante.
- Lavado con Xilol para clarificar el frotis.
- Secado la lámina por 5 minutos en una estufa.

- Montaje con Martex.

Una vez procesadas las muestras se observaron y analizaron a través de un microscopio óptico por un especialista en el área, para identificar la presencia de alguna variación en la morfología celular, presencia o ausencia de componentes inflamatorios, microorganismos o cualquier otro elemento que permita asignar un diagnóstico (clasificación de Papanicolau) que fue reportado en una ficha citológica.

3.7 Principios bioéticos

De acuerdo con la declaración de Helsinki¹⁰⁵ el propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones probadas deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad. Como es el caso de esta investigación donde a partir del examen citológico y el protocolo de azul de toluidina se quiere intervenir de manera preventiva y/o diagnóstica los cambios potencialmente malignos que pudiesen dar indicios de inicio de un desarrollo de cáncer bucal.

En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal. Por ello, todo procedimiento dentro de la investigación será

realizado de manera anónima y confidencial pensando en el bien y la integridad de los objetos de estudio.

3.8 Análisis de resultados

En función de los objetivos específicos se planteó analizar los resultados. En este sentido, el primer objetivo consistió en identificar los hallazgos citológicos de las muestras se utilizó la estadística descriptiva por medio de tablas.

Para el segundo objetivo, en el cual se propuso establecer la frecuencia de los cambios citológicos potencialmente malignos con respecto a los factores de riesgo. Se utilizaron tablas cruzadas que mostraron el factor de riesgo con los cambios potencialmente malignos.

Para el tercer objetivo específico, en el cual se planteó relacionar la frecuencia de consumo de los factores de riesgos asociados a los cambios citológicos potencialmente malignos se evaluó un modelo de regresión logística multivariable para explicar el efecto del riesgo relativo de cada una de los factores, donde se combinaron las variables independientes, (tabaco, alcohol, chimo, alimentos picantes, bebidas calientes) sobre los cambios citológicos potencialmente malignos, variables dependientes.

Finalmente, el análisis estadístico se realizó a través de los programas Microsoft Office Excel 2013 y Statistics Package for the Social Sciences 2019 (SPSS).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1 Presentación de los resultados

En este capítulo se presentan y analizan, los resultados conformes a los objetivos específicos planteados.

El presente estudio fue llevado a cabo en el servicio de odontología del ambulatorio El Llano Mérida – Venezuela, en el periodo de mayo a agosto 2018; donde se realizó la técnica de citología exfoliativa en conjunto con la tinción de azul de toluidina a 80 pacientes voluntarios que acudieron a la consulta odontológica y cumplían con los criterios de inclusión, se obtuvieron muestras de las células exfoliadas de mucosa bucal clínicamente sana con la finalidad de determinar la frecuencia de los cambios citológicos potencialmente malignos.

Hallazgos citológicos de las muestras de mucosa bucal clínicamente sana de los pacientes.

Se analizaron 80 muestras de citología exfoliativa tomadas en pacientes sanos sistémicamente con mucosa bucal clínicamente sana, con edades comprendidas entre 18 y 63 años.

Los resultados obtenidos del análisis de las muestras de mucosa bucal clínicamente sana se presenta en la tabla 1. De acuerdo a los resultados citológicos reportados, en este estudio encontramos que del total de citologías realizadas (80), 11% presentó signos de reacción inflamatoria, 10% clase II y 1 caso clase III, observándose signos de displasia, según la clasificación de Papanicolau utilizada.

Tabla 1. Resultados de la citología exfoliativa, clasificación de Papanicolau.

	Frecuencia	Porcentaje
Clase I	71	89 %
Clase II	8	10 %
Clase III	1	1 %
Total	80	100 %

En relación a los cambios citológicos con respecto al género en la tabla 2 se observa que el género femenino estuvo representado en 56% de las muestras, siendo el porcentaje restante (44%) del género masculino, cabe destacar que el único caso indicativo de displasia (clase III), se presentó en el género masculino.

Tabla 2. Cambios citológicos con respecto al género.

			Resultado			Total
			Clase I	Clase II	Clase III	
Género	Femenino	Recuento	40	5	0	45
		% del género	89%	11%	0%	100%
	Masculino	Recuento	31	3	1	35
		% del género	89%	9%	2%	100%
Total		Recuento total	71	8	1	80

Según se puede detallar en la tabla 3, la edad de los pacientes estuvo comprendida entre 18 - 63 años, para representarlos categóricamente se clasificaron en 5 grupos de rangos de 10 años cada uno. El grupo etario de 18 a 27 años fue el más examinado representando 53% de la población con 38 pacientes en la categoría clase I y 4 en la categoría clase II. Asimismo, el grupo etario de 28 a 37 años fue en el que se observó mayor número de cambios citológicos con 13 muestras clase I, 2 clase II y un único caso presentado entre todos los analizados clase III, solamente se examinó un caso mayor a 58 años dentro de la categoría clase I.

Tabla 3. Cambios citológicos con respecto al grupo etario.

			Resultado			Total	
			Clase I	Clase II	Clase III		
Grupo Etario (G.E)	18 - 27	Recuento	38	4	0	42	
		% del G.E	91%	9%	0%	100%	
	28 - 37	Recuento	13	2	1	16	
		% del G.E	81%	13%	6%	100%	
	38 - 47	Recuento	12	1	0	13	
		% del G.E	92%	8%	0%	100%	
	48 - 57	Recuento	7	1	0	8	
		% del G.E	88%	12%	0%	100%	
	> 58	Recuento	1	0	0	1	
		% del G.E	100%	0%	0%	100%	
	Total		Recuento	71	8	1	80

Frecuencia de los cambios citológicos potencialmente malignos con respecto a los factores de riesgo.

Los resultados alcanzados relacionando cada uno de los factores de riesgo con los resultados citológicos obtenidos se expresan desde la tabla 4 a la 8.

Con respecto al consumo de cigarrillo en la tabla 4 se observa que el 89% de las muestras clase I correspondían a pacientes no fumadores, y el único cambio displásico (clase III) se observó en esta categoría de pacientes.

Tabla 4. Cambios citológicos con respecto al consumo de cigarrillo.

			Resultado			Total
			Clase I	Clase II	Clase III	
Fuma	No	Recuento	58	6	1	65
		% del habito	89%	9%	2%	100%
	Si	Recuento	13	2	0	15
		% del habito	87%	13%	0%	100%
Total		Recuento	71	8	1	80

Con respecto al consumo de chimó, 10 de los pacientes que participaron en la investigación eran consumidores de chimó. El único caso indicativo de displasia se reportó dentro del grupo de pacientes no consumidores de chimo.

Tabla 5. Cambios citológicos con respecto al consumo de chimó.

			Resultado			Total
			Clase I	Clase II	Clase III	
Chimo	No	Recuento	63	6	1	70
		% del habito	90%	9%	1%	100%
	Si	Recuento	8	2	0	10
		% del habito	80%	20%	0%	100%
Total		Recuento	71	8	1	80

Con respecto al consumo de alcohol, la mayoría de la población examinada (54 pacientes) consumía alcohol; asimismo, el único cambio indicativo de displasia se presentó en el grupo que no consumía alcohol.

Tabla 6. Cambios citológicos con respecto al consumo de alcohol.

			Resultado			Total
			Clase I	Clase II	Clase III	
Alcohol	No	Recuento	23	2	1	26
		% del hábito	88%	8%	4%	100%
	Si	Recuento	48	6	0	54
		% del hábito	89%	11%	0%	100%
Total		Recuento	71	8	1	80

La mayoría de los pacientes eran consumidores de bebidas calientes (63 pacientes), y todos los cambios de tipo inflamatorios (clase II) 12,7% pertenecen a este grupo.

Tabla 7. Cambios citológicos con respecto al consumo de bebidas calientes.

			Resultado			Total
			Clase I	Clase II	Clase III	
Bebidas calientes	No	Recuento	16	0	1	17
		% del hábito	94%	0%	6%	100%
	Si	Recuento	55	8	0	63
		% del hábito	87,3%	12,7%	0%	100%
Total		Recuento	71	8	1	80

La mayoría de los pacientes eran consumidores de alimentos picantes (42 pacientes), sin embargo el cambio displásico no consumía alimentos picantes.

Tabla 8. Cambios citológicos con respecto al consumo de alimentos picantes.

			Resultado			Total
			Clase I	Clase II	Clase III	
Alimentos picantes	No	Recuento	34	3	1	38
		% del habito	89%	8%	3%	100%
	Si	Recuento	37	5	0	42
		% del habito	88%	12%	0%	100%
Total		Recuento	71	8	1	80

Frecuencia de consumo de los factores de riesgos asociados a los cambios citológicos potencialmente malignos.

Se aplicó un modelo estadístico de regresión logística multivariable, donde los resultados no fueron estadísticamente significativos y su representación fue muy pobre, en el resumen, el modelo R^2 es muy cercano a 0 (debe ser cercano a 1). Por ello, se presentan las siguientes tablas de cruces entre las frecuencia de consumo de los factores de riesgo con los resultados citológicos para evaluar de manera cercana esta relación.

Tabla 9. Frecuencia del consumo de cigarrillo relacionado a los cambios citológicos.

			Frecuencia Fuma			Total
			No consume	Esporádicamente	Todos los días	
Resultado	Clase I	Recuento	58	9	4	71
		% del total	82%	13%	5%	100%
	Clase II	Recuento	6	1	1	8
		% del total	75%	12,5%	12,5%	100%
	Clase III	Recuento	1	0	0	1
		% del total	100%	0%	0%	100%
Total		Recuento	65	10	5	80

Solo 25% de los pacientes fumadores presentaron cambios de tipo inflamatorio (clase II). Sin embargo, el cambio displásico que se reportó pertenecía a un paciente del grupo no fumador.

Tabla 10. Frecuencia del consumo de chimó relacionado a los cambios citológicos.

			Frecuencia Chimó			Total
			No consume	Esporádicamente	Todos los días	
Resultado	Clase I	Recuento	63	2	6	71
		%	89%	3%	8%	100%
	Clase II	Recuento	6	1	1	8
		%	75%	12,5%	12,5%	100%
	Clase III	Recuento	1	0	0	1
		%	100%	0%	0%	100%
Total		Recuento	70	3	7	80

El 89% del total de los pacientes que no consumían chimó tuvieron un frotis de células normales. Por otro lado, 25% de los pacientes consumidores de chimo tanto esporádicamente como todos los días presentaron cambios citológicos clase II.

Tabla 11. Frecuencia del consumo de alcohol relacionado con los cambios citológicos.

			Frecuencia Alcohol			Total
			No Consume	Esporádicamente	Todos los días	
Resultado	Clase I	Recuento	25	46	0	71
		%	35%	65%	0%	100%
	Clase II	Recuento	2	6	0	8
		%	25%	75%	0%	100%
	Clase III	Recuento	1	0	0	1
		%	100%	0%	0%	100%
Total	Recuento	28	52	0	80	

Los resultados indican que 75% de los pacientes consumidores de alcohol esporádicamente presentaron cambios de tipo inflamatorio (clase II). Sin embargo el cambio displásico estuvo ubicado en pacientes que no consumían alcohol.

Tabla 12. Frecuencia del consumo de bebidas calientes con relación a los cambios citológicos.

			Frecuencia Bebidas calientes			Total
			No consume	Esporádicamente	Todos los días	
Resultado	Clase I	Recuento	18	17	36	71
		%	25%	24%	51%	100%
	Clase II	Recuento	0	3	5	8
		%	0%	37,5%	62,5%	100%
	Clase III	Recuento	1	0	0	1
		% del total	100%	0%	0%	100%
Total	Recuento	19	20	41	80	

El 100% de los casos con cambios inflamatorios (8 pacientes) consumían bebidas calientes esporádicamente y todos los días.

Tabla 13. Frecuencia del consumo de alimentos picantes con relación a los cambios citológicos.

			Frecuencia alimentos picantes			Total
			No consume	Esporádicamente	Todos los días	
Resultado	Clase I	Recuento	34	29	8	71
		%	48%	41%	11%	100%
	Clase II	Recuento	3	5	0	8
		%	37,5%	62,5%	0%	100%
	Clase III	Recuento	1	0	0	1
		%	100%	0%	0%	100%
Total	Recuento	38	34	8	80	

En el 62,5 % de los casos donde hubo cambios de tipo inflamatorio, la frecuencia de consumo de alimentos picantes era esporádica.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

El diagnóstico precoz de lesiones potencialmente malignas es una de las tareas más importantes en el ámbito odontológico. Dichas lesiones como posibles precursoras de cáncer oral, son de atención al hacer un examen clínico de rutina, puesto que su detección temprana influye directamente en el pronóstico del paciente¹⁰. Los primeros cambios que se producen en un tejido son a nivel celular, en la morfología y la función¹⁷. Por ello se hace tan importante tener métodos complementarios que ayuden al profesional en el diagnóstico más allá de su percepción visual, como en el caso de la presente investigación: donde se utilizó el examen clínico, la tinción de azul de toluidina y la citología bucal.

Para esta investigación, se trabajó con 80 pacientes con mucosa clínicamente sana y sin problemas sistémicos, se realizó la evaluación clínica con los métodos complementarios previamente mencionados. Y se obtuvo cambios citológicos en 11% (9 pacientes) de los pacientes, representado por un 10% (8) de cambios clase II y 1% (1) de cambios clase III. Por otro lado, Posso et al.⁵⁸ en el 2008 realizaron una investigación donde trabajaron con 59 pacientes sin evidencia de lesiones bucales y obtuvieron cambios celulares en un 37,3% de ellos, de los cuales incluso un 6,8% presentó cambios clase III. Sin embargo, a su población no se les aplicó el mismo protocolo de toma de muestra que se utilizó en la presente investigación, ni se les evaluó el estado sistémico de los pacientes.

El cáncer oral es una enfermedad de origen y causas multifactoriales, se considera factor de riesgo cualquier elemento que pueda aumentar las posibilidades de una persona para desarrollar alguna enfermedad, y aunque estos factores la desencadenen, no necesariamente la causan⁹. De los factores de riesgo externos

ampliamente descritos se tomaron los siguientes: edad, género², tabaco (cigarrillo y chimó)⁴⁻⁸, consumo de alcohol, consumo de ciertos alimentos (caliente y picante)⁹⁻¹⁴.

Con respecto al género, la población del estudio estuvo constituida por 56% del género femenino. La frecuencia de cambios clase II en ambos géneros fue semejante, coincidieron en 89% en cada caso, por lo que no hubo relación de los cambios citológicos en relación al género, a excepción de un caso aislado de cambio clase III en el género masculino. En relación a ello, la tendencia encontrada en un meta análisis realizado por Mello et al. indica que la prevalencia de los cambios potencialmente malignos en este género, es influenciado por los hábitos culturales y socio-económicos⁹³.

Seguidamente, en cuanto al grupo etario, el rango de población que predominó fue el de 18-27 años, con 53%. Por otro lado, el grupo de 28 a 37 años fue aquel que presentó mayor número de cambios citológicos con 19%, incluyendo el caso de cambio citológico asociado a características displásicas. Datos que apoyan la idea de trabajo de Iype et al.¹⁰⁶ en India, donde a través de un estudio epidemiológico buscaban definir la clínica, las características patológicas y patrón de comportamiento de los casos reportados de carcinoma en pacientes menores de 35 años, dadas las subidas de casos diagnosticados en edades tempranas: 264 casos en 15 años, cambiando el patrón de diagnóstico relacionado con adulto mayor que se venía manejando. Aunque no es un hecho total el cambio de paradigma diagnóstico, nos infiere que se debe tener cuidado en todos los pacientes sin importar edad.

Otro factor importante es el consumo de cigarrillo, 15% de la población tenía el hábito de fumar, y se observaron cambios clase II en 3% de la misma. Resultado que no coincide con un estudio de Komali et al⁶³, donde trabajaron con pacientes sistémicamente sanos y sin lesiones bucales clínicas, fumadores y no fumadores, se tomaron muestras antes y después del protocolo de tinción de azul de toluidina. Obtuvieron que luego de la aplicación de la tinción se observaron cambios

morfológicos directos, estadísticamente significativos, como: Pleomorfismo nuclear ($P < 0.05$) en los frotis de los pacientes fumadores en comparación con los no fumadores. Igualmente Sharbatdaran et al⁵⁷ en una investigación donde se trabajó exclusivamente con género masculino con pacientes sanos y sin lesión aparente en boca, se dividieron en 2 grupos: con hábitos de fumadores y no fumadores, con el mismo protocolo de la investigación antes mencionada. Obtuvieron que luego de la tinción se observaron pleomorfismos nucleares y celulares en ambos grupos, con una diferencia estadística significativa en el grupo de fumadores (P valor = 0.001 y 0.005, respectivamente). En estos trabajos a diferencia de la presente investigación, se evaluaron los cambios citomorfométricos de manera individual, y no un diagnóstico general de cada frotis, ya que se necesitan tener 3 criterios de malignidad en un mismo frotis para poder establecer un diagnóstico¹⁰⁷. Y aunque no podemos establecer una comparación exacta, es importante mencionar, que en ambos casos se ven cambios celulares en los pacientes: fumadores y no fumadores, aunque con significancia estadística solo en el grupo fumadores; y además de ello, fue aplicado el protocolo de azul de toluidina en conjunto con citología exfoliativa bucal de igual al igual que en la presente investigación.

Referente al consumo de chimó 25% de los pacientes que consumían chimó, tanto esporádicamente, como todos los días, presentaron cambios citológicos de tipo inflamatorio. Contrario a los resultados obtenidos por Parra et al.⁷ donde tomaron muestra citológica de 120 pacientes y obtuvieron 52.5% de cambios de tipo inflamatorio, un 1,7% sospechoso de displasia e incluso 0,8% (1 caso) de diagnóstico positivo de carcinoma. Este estudio se realizó específicamente en una zona geográfica altamente consumidora de este factor de riesgo, y la muestra fue tomada de la zona donde el paciente se colocaba el chimó. A diferencia de este trabajo que el 85,5% de los pacientes eran no consumidores de chimó y la zona de toma de muestra fue seleccionada de manera visual según la indicación de la tinción de azul de toluidina.

Con respecto al consumo de alcohol 75% de los pacientes consumidores tuvieron cambios de tipo inflamatorio en sus frotis. De igual modo, Da Silva et al⁶⁵ en un estudio observacional estudiaron frotis de 117 hombres sanos, mayores de 25 años para evaluar la influencia de los factores de riesgo. Tomaron muestras citológicas de borde de lengua y piso de boca del lado contralateral, y al hacer prueba logística multivariable, obtuvieron que el alcohol (su consumo y su aumento de hábito) fue el único factor de riesgo que mostró significancia estadística en cuando a los cambios celulares de tipo: anucleación celular, células superficiales con núcleos y disminución de células intermedias. Este trabajo a diferencia de esta investigación, estudió la cantidad de alcohol que consumían y la evaluación citológica fue hecha bajo otros criterios; sin embargo, refuerzan la premisa de que el consumo de alcohol produce cambios celulares.

Al mismo tiempo, se obtuvo que todos los pacientes con cambios citológicos de tipo inflamatorios consumían bebidas calientes esporádicamente o todos los días. Gonzalez⁹ consiguió cambios similares en una investigación donde se busca determinar la acción térmica del mate como factor de riesgo del cáncer bucal, trabajaron con 100 pacientes, divididos en pacientes consumidores de mate y mate-tabaco, registraron la temperatura de la cavidad bucal y realizaron toma de muestra citológica antes y después del consumo de mate. En la toma de muestra previa al consumo de mate en fumadores obtuvieron 70% de cambios inflamatorios, y en no fumadores 20% de cambios inflamatorios leves, seguidamente posterior al consumo de mate en fumadores obtuvieron 39% de inflamación severa (clase IV), 27% de inflamación moderada (clase III), y 27% de inflamatoria leve (clase II), y en no fumadores 4% de inflamación moderada y 45% de inflamación leve. Y aunque específicamente esta investigación no toma en cuenta la frecuencia de consumo de bebidas calientes dada la idiosincrasia de la población de estudio, se infiere que sea el té y el café. Es importante destacar esta relación ya que demuestra la alteración de la

mucosa de pacientes sanos, previo al consumir bebidas calientes incluso hasta 60 minutos después del consumo, así como también muestra el efecto potenciador del hábito tabáquico en los cambios bucales.

Así mismo en un estudio de Caciva¹⁰ donde analizo citológicamente muestras para ver la relación núcleo/citoplasma con el consumo de tabaco, de alcohol y de mate, en forma independiente y de manera asociada, aumentando la diferencia con la intensidad del hábito en piso de boca, mucosa yugal y en paladar blando. Los cambios fueron más evidentes cuando se compararon los voluntarios sin hábitos con aquéllos que tenían la combinación de los tres: tabaco, alcohol y mate. En consumidores solo de mate obtuvieron una disminución del núcleo en muestras de borde de lengua y paladar sin importar la intensidad de consumo, mientras que en la mucosa yugal esta variación se veía modificada según la intensidad de consumo. Por lo que se puede inferir que si bien no procesaron las muestras bajo el mismo criterio de nuestra investigación, el consumo de bebida caliente, en este caso el mate, de manera aislada o asociada a otros factores de riesgo, produce cambios celulares.

Por último, en la asociación de consumo y frecuencia de alimentos picantes, tuvieron cambios celulares inflamatorios apenas de un 6% de los participantes que consumían esporádicamente, mientras que el 10% de pacientes que consumía picantes todos los días no tuvo cambios celulares. Dato que no coincide con la literatura, donde está documentado que se relaciona con lesiones premalignas como la fibrosis submucosa¹⁶. En un estudio de González⁹² realizo un sondeo de pacientes seniles y les evaluaron sus factores de riesgo y lesiones en boca, consiguieron que el factor de riesgo que predominó fue alimentos picantes y calientes con un 83,2%, presentando presencia de lesión bucal en un 48,5% de los participantes. Y aunque solamente se evaluó clínicamente a los pacientes y la población fue mayormente senil (más propensa a cambios), se hace propicio mencionarlo.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

A través del presente estudio llevado a cabo en el servicio de odontología del ambulatorio El Llano, Mérida – Venezuela, en el periodo de mayo a agosto 2018 se pudieron llegar a las siguientes conclusiones:

1. La frecuencia de cambios celulares en mucosa bucal diagnosticados a través de examen clínico, protocolo con la tinción de azul de toluidina y citología bucal en la población, estuvo presente en 11%, de los cuales el 10% presentó cambios a nivel inflamatorio (clase II) y 1% fue indicativo de displasia (clase III).
2. No se encontró una relación estadísticamente significativa entre los cambios citológicos y los factores de riesgos estudiados. (edad, género, hábito de fumar, alcohol, chimo, consumo de bebidas calientes y alimentos picantes), Sin embargo, es importante señalar que el consumo de bebidas calientes presentó cambios de tipo inflamatorios (clase II) en el 100% de los pacientes consumidores. Así mismo, el consumo de alcohol 75% de los pacientes consumidores mostró cambio de tipo inflamatorio en los frotis.
3. El caso indicativo de displasia (clase III) encontrado en la población estudiada, pertenece al género masculino y no estaba expuesto a ningún factor de riesgo de los anteriormente mencionados.

5.2 Recomendaciones

1. Realizar estudio con seguimiento de los pacientes que presenten algún cambio citológico.
2. Realizar otros estudios donde se haga énfasis la cantidad de consumo de los factores de riesgo.
3. Estudios con un mayor número de participantes para obtener resultados estadísticamente significativos.
4. Hacer otros estudios de investigación, en las diferentes regiones del estado Mérida, para determinar la frecuencia de exposición a alguno de los factores de riesgo en la población.
5. Implementar la técnica de tinción de azul de toluidina y citología bucal en la consulta odontológica diaria en pacientes con o sin factores de riesgo importantes, mucosa clínicamente y sanos sistémicamente sanos como medio de diagnóstico precoz de cambios potencialmente malignos.

REFERENCIAS

1. Salazar M, Sacsquispe S. Presencia de hifas de *Candida* en adultos con mucosa oral clínicamente saludable. Rev Estomatológica Hered [Internet]. 2005;15(1):54-9. Disponible en: <http://www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/REH/article/view/1978>
2. Gallegos J, Ortiz A, Rojas S, Flores R, Espinoza A, Minauro G. Factores pronóstico en cáncer de boca. Acta Médica Grup Ángeles [Internet]. 2010;8(2):88-94. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/actmed/am-2010/am102d.pdf>
3. Moreno V, Vicuña S. Detección del polimorfismo del gen GSTM1 en mucosa oral sana en mayores de de 40 años [Internet]. Universidad Andrés Bello; 2016. Disponible en: http://repositorio.unab.cl/xmlui/bitstream/handle/ria/3789/a118858_Moreno_V_Deteccion_del_polimorfismo_del_gen_2016_Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Lescaille G, Ernenwein D, Toledo R. Cánceres de la cavidad bucal: detección y factores de riesgo. EMC - AKOS [Internet]. 2011;15:1-8. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/257676749_Canceres_de_la_cavidad_bucal_deteccion_y_factores_de_riesgo
5. Ferreira F, Batista A, Ignácio S, De Lima A. Análise citomorfométrica de esfregaços bucais de fumantes obtidos pela citologia esfoliativa em base líquida. Pesqui Bras Odontoped Clin Integr [Internet]. 2008;8(1):81-6. Disponible en: <http://revista.uepb.edu.br/index.php/pboci/article/viewFile/244/175>
6. Acha A, Ruesga M, Rodríguez M, Martínez M, Aguirre J. Aplicaciones de la citología oral por raspado (exfoliativa) en el cáncer y precáncer oral. Med Oral Patol Oral Cir Bucal [Internet]. 2005;10(2):95-102. Disponible en: <http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v10i2/medoralv10i2p95.pdf>

7. Parra J, Tovitto E, Jarpa P, Moreno G, Florido R, Omaña C. Determinación de cambios celulares en pacientes consumidores de chimó a través del estudio citológico. *RevVenezInvestOdont IADR* [Internet]. 2014;2(2):116-25. Disponible en: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/rvio>
8. Seifi S, Feizi F, Mehdizadeh M, Khafri S, Ahmadi B. Evaluation of cytological alterations of oral mucosa in smokers and waterpipe users. *Cell J* [Internet]. 2014;15(4):302-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24381854>
9. Gonzalez M, Fernandez E, Bessone G, Rosales C. La acción termica del mate como factor de riesgo en el cáncer bucal. *Rev Fac Odontol* [Internet]. 2016;9(1). Disponible en: <http://revistas.unne.edu.ar/index.php/rfo/article/view/1587>
10. Caciva R. Marcadores de malignidad relacionados con el consumo de tabaco, alcohol y mate [Internet]. Universidad Nacional de Córdoba; 2016. Disponible en: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/4673>
11. López J, Omaña C, Jané E. Precáncer y cáncer bucal. *Med Clin* [Internet]. 2015;145(9):404-8. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/271539110_Precancer_y_cancer_bucal
12. Albuquerque R, López-López J, Marí-Roig A, Jané-Salas E, Chimenos E, Santos J. Relationship between squamous cell carcinoma of the anterior two thirds of the tongue and removable denture use - a pioneer study in a portuguese population. *Braz Dent J* [Internet]. 2011;22(5):410-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22011898>
13. Santelices M, Cárcamo M, Brenner C, Montes R. Cáncer oral en Chile. Revisión de la literatura. *Rev Med Chile* [Internet]. 2016;144:766-70. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872016000600011
14. Rocha Buelvas A. Cáncer oral: el papel del odontólogo en la detección temprana y control. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* [Internet]. 2009;21(1):112-

21. Disponible en:
<https://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/odont/article/view/2237/3032>
15. Drogoszevska B, Chomik P, Michcik A, Polcyn A, Włodarkiewicz A. A standard picture of healthy oral mucosae by direct oral microscopy. *Postep Derm Alergol* [Internet]. 2013;3:159-64. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3834714/pdf/PDIA-30-20952.pdf>
16. Warnakulasuriya S, Johnson NW, Van Der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 2007;36(10):575-80. Disponible en:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x>
17. Jerez E, Zerpa R, Omaña C. Determinar el uso de la citología oral como medio de diagnóstico en la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes Mérida, Venezuela. *Acta Bioclinica* [Internet]. 2013;3(5):8-11. Disponible en:
<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:BovBn7t1maQJ:revistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/download/4402/4180+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=ve>
18. Brunotto M, Zérate AM, Cismondi A, Fernández M del C, Noher de Halac RI. Valoración de la citología exfoliativa como factor de predicción en lesiones de la mucosa oral. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* [Internet]. 2005;10(2):92-102. Disponible en:
<http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v10Suppl2i/medoralv10suppl2ip92.pdf>
19. Brener I, Ibáñez N, Eljure Eljure, Bravo F. Retraso en el diagnóstico de cáncer en cavidad bucal y anexos como factor clave para el pronóstico. *ADM* [Internet]. 2014;71(4):188-91. Disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2014/od144g.pdf>
20. Bittar T, Paranhos L, Fornazari D, Pereira A. Epidemiological features of oral cancer – a world public health matter. *RFO* [Internet]. 2010;15(1):87-93.

Disponible en: <http://revodontobvsalud.org/pdf/rfo/v15n1/16.pdf>

21. OMS. Cáncer [Internet]. 2017. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
22. Luciano-Muscio R, Oviedo J. Virus del papiloma humano y carcinogénesis. *Acta Odontol Venez* [Internet]. 2013;51(1):1-16. Disponible en: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2013/1/art-26/>
23. Fernández A, Maureen M, Alfredo E. Human papilloma virus and oral cancer: narrative review of the literature. *J Oral Res* [Internet]. 2014;3(3):190-7. Disponible en: <http://www.joralres.com/index.php/JOR/article/view/joralres.2014.044/99>
24. De Guglielmo Z, Ávila M, Veitúa D, Fenandes A, Venegas C, Correnti M. Detección de VPH en boca y cérvix de pacientes con diagnóstico citológico sugestivo de infección genital. *An Sis San Navarra* [Internet]. 2012;35(3):445-54. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272012000300010
25. Vigneswaran N, Williams M. Epidemiologic trends in head and neck cancer and aids in diagnosis. *Oral Maxillofac Surg Clin NA* [Internet]. 2014;26(2):123-41. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4040236/pdf/nihms-581212.pdf>
26. Cowan C, Gregg T, Napier S, McKenna S, Kee F. Potentially malignant oral lesions in northern Ireland: a 20-year population-based perspective of malignant transformation. *Oral Dis* [Internet]. 2001;7(1):18-24. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1034/j.1601-0825.2001.70104.x>
27. Golaszewski A, Diaz N, Villarroel-Dorrego M. Cambios tisulares y celulares por tabaquismo en mucosa bucal clínicamente sana: Estudio clínico transversal. *Av Odontoestomatol* [Internet]. 2015;31(6):363-70. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852015000600004

28. GLOBOCAN. Age standardized (World) incidence rates, lip, oral cavity, by sex [Internet]. Lyon, France; 2018. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/1-Lip-oral-cavity-fact-sheet.pdf>
29. U.S. Cancer Statistics Working Group. U.S. Cancer Statistics Data Visualizations Tool (2012-2016) [Internet]. Atlanta, GA; 2018. Disponible en: <https://gis.cdc.gov/Cancer/USCS/DataViz.html>
30. Capote L. Resumen del cáncer en Venezuela.2012. Rev Venez Oncol [Internet]. 2015;27(4):256-68. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375641011010>
31. Pérez-Sayáns M. Determinación De ATP6V1C1 En Muestras De Citología Exfoliativa De La Cavidad Oral: Implicación En El Diagnóstico Del Carcinoma Oral De Células Escamosas. Un Estudio Preliminar. [Internet]. Vol. 1. Universidad de Santiago de Compostela; 2010. Disponible en: https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2788/9788498873603_content.pdf?sequence=1
32. Albornoz C, Rivero O, Bastian L. Avances en el diagnóstico de las lesiones cancerizables y malignas del complejo bucal. Rev Arch Médico Camagüey [Internet]. 2010;14(5). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552010000500019
33. Reddy G, Rao K, Kumar K, Sekhar P, Lalith K, Ramana B. Diagnosis of oral cancer: The past and present. J Orofac Sci [Internet]. 2014;6(1):10. Disponible en: <http://www.jofs.in/article.asp?issn=0975-8844;year=2014;volume=6;issue=1;spage=10;epage=16;aulast=Reddy>
34. Cankaya H, Guneri P, Epstein JB. Adjunctive methods and devices for clinical detection of oral squamous cell carcinoma. Oral Health Prev Dent [Internet]. 2015;13(1):29-39. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/265418072_Adjunctive_Methods_and_Devices_for_Clinical_Detection_of_Oral_Squamous_Cell_Carcinoma
35. Epstein J, Zhang L, Rosin M. Advances in the diagnosis of oral premalignant

- and malignant lesions. *J Can Dent Assoc* [Internet]. 2002;68(10):617-21. Disponible en: <http://cda-adc.ca/jadc/vol-68/issue-10/617.pdf>
36. Kumaresan GD, Jagannathan N. Exfoliative cytology - a predictive diagnostic tool. *Int J Pharm Pharm Sci* [Internet]. 2014;6(5):1-3. Disponible en: <http://www.ijppsjournal.com/Vol6Issue5/8798.pdf>
37. Mishra S, Hosmani J, Manoli N, Nayak R, Manjunath G V. Efficacy of manual liquid based cytology over conventional cytology in oral squamous cell carcinoma. *Sci J Clin Med* [Internet]. 2015;4(4-1):11-5. Disponible en: <http://article.sciencepublishinggroup.com/pdf/10.11648.j.sjcm.s.2015040401.13.pdf>
38. García O, Arredondo M, Alvarez M. Citología exfoliativa en el diagnóstico precoz de lesiones oncológicas bucales. *Rev Cubana Estomatol* [Internet]. 2002;39(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200002
39. Linares M, Chaparro N, Zalec P, Villalobos C, Pérez L. Estudio citomorfométrico de la mucosa bucal en pacientes con terapia inmunosupresora por trasplante renal. *Rev Científica Hosp Coromoto* [Internet]. 2015;4(1):7-13. Disponible en: <http://bdigital.ula.ve/pdf/pdfrevista/rchcoromoto/v4n1/art02.pdf>
40. Del Castillo C, Zequeira J, López C, Siré A. El Diagnóstico clínico y la detección precoz del cáncer bucal. *Arch Médico Camaguey* [Internet]. 2003;7(5). Disponible en: <http://www.amc.sld.cu/amc/2003/v7supl1/763.pdf>
41. Albornoz C, Barrios O, Rojas P, Bastian L, Santana J. Eficacia del azul de toluidina y lugol en el diagnóstico precoz del cáncer bucal. *Rev Arch Médico Camaguey* [Internet]. 2010;14(4). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v14n4/amc140410.pdf>
42. Zhang L, Williams M, Poh C, Laronde D, Epstein J, Durham S, et al. Toluidine blue staining identifies high-risk primary oral premalignant lesions with poor outcome. *Cancer Res* [Internet]. 2005;65(17):8017-21. Disponible

- en: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/65/17/8017.full-text.pdf>
43. Macey R, Walsh T, Brocklehurst P, Kerr A, Liu J, Lingen M, et al. Diagnostic tests for oral cancer and potentially malignant disorders in patients presenting with clinically evident lesions (Review). *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2015;29(5). Disponible en: <http://cochranelibrary-wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD010276.pub2/full>
 44. Omaña C, Martínez N. Importancia del diagnóstico precoz de lesiones orales. *Rev del Ateneo Argentino Odontol* [Internet]. 2009;XLVIII(1):17-23. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/277476213_Importancia_del_estudio_citologico_en_el_diagnostico_precoz_de_lesiones_orales
 45. Edris A, Ahmed H, Mohammed E. Accuracy of oral exfoliative cytology in Sudanese patients undergoing oral biopsy. *RSBO* [Internet]. 2011;8(3):255-60. Disponible en: http://revodontobvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-56852011000300003&lng=pt&nrm=iso
 46. Kaur M, Saxena S, Samantha Y, Chawla G, Yadav G. Usefulness of oral exfoliative cytology in dental practice. *J Oral Heal Community Dent* [Internet]. 2013;7(3):161-5. Disponible en: https://www.johcd.org/pdf/Sep_Dec_2013/06_Usefulness_of_Oral_Exfoliative.pdf
 47. Álvarez R, Carrero J, Omaña C, Florido R. Cambios celulares presentes en mucosa palatina con estomatitis subprotésica. *Rev Odontológica los Andes* [Internet]. 2012;7(2):12-20. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/36961>
 48. Potter T, Summerlin D-J, Campbell J. Oral Malignancies Associated With Negative Transepithelial Brush Biopsy. *J Oral Maxillofac Surg* [Internet]. 2003;61:674-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12796875>
 49. Jaitley S, Agarwal P, Upadhyay R. Role of oral exfoliative cytology in

- predicting premalignant potential of oral submucous fibrosis: A short study. *J Cancer Res Ther* [Internet]. 2015;11(2):471-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26148621>
50. Messadi D V. Diagnostic aids for detection of oral precancerous conditions. *Int J Oral Sci* [Internet]. 2013;5(2):59-65. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/ijos.2013.24>
 51. Torres J, Vivas R, Arellano L. Estudio citopatológico del epitelio bucal en pacientes totalmente edéntulos con dentaduras recientes y de larga data. *Rev Odontol los Andes* [Internet]. 2012;7(1):24-32. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/35681/1/articulo3.pdf>
 52. Singh A. Role of exfoliative cytology in oral lesions: with special reference to rule out malignancy. *J Coll Med Sci* [Internet]. 2010;6(2):29-37. Disponible en: <http://www.nepjol.info/index.php/JCMSN/article/view/3614/3113>
 53. Almirón M, Rosende R, Zamudio M, Gili M. Valoración de la citología exfoliativa como método diagnóstico a propósito de un Carcinoma escamoso de lengua. *Rev Fac Odontol* [Internet]. 2011;4(1):61-8. Disponible en: <http://revistas.unne.edu.ar/index.php/rfo/article/view/987/826>
 54. Estrada G, Márquez M, González E, Jiménez R, Domínguez R. Diagnóstico clínico e histopatológico del carcinoma in situ en la mucosa bucal. *MEDISAN* [Internet]. 2015;19(4):462-7. Disponible en: <http://www.medisan.sld.cu/index.php/san/article/view/264>
 55. Mukherjee S, Dutta N, Roy A, Shetty R, K.N. S, Pandey V. Assessment of cytomorphometric features of oral squames from buccal mucosa of tobacco users using oral brush biopsy: An exfoliative cytological study. *Ann Int Med Dent Res* [Internet]. 2016;2(4):80-4. Disponible en: http://aimdrjournal.com/pdf/Vol2Issue4_24_OA.pdf
 56. Orellana A, Santander I, Franco ME, Ortega A. Evaluación del grado de queratinización y el recuento de AgNORs en citología exfoliativa de mucosa oral normal de individuos fumadores y no fumadores. *Med Oral* [Internet]. 2004;(10):197-203. Disponible en:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1698-44472004000300003

57. Sharbatdaran M, Abbaszadeh H, Siadati S, Ranaee M, Hajian-Tilaki K, Rajabi-Moghaddam M. Assessment of Oral Cytological Features in Smokers and Nonsmokers After Application of Toluidine Blue. *Diagn Cytopathol* [Internet]. 2017;00(00):1-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28296246>
58. Posso M, Barrios A. La citología bucal como técnica de diagnóstico en la detección precoz de lesiones bucales sin evidencia clínica. Universidad de Los Andes; 2008.
59. Flete A, Cáribas A, Payares G, Villarroel M. Cambios histopatológicos de la mucosa bucal de ratas expuestas al humo de cigarrillos. *Av Odontostomatol* [Internet]. 2014;30(4):219-25. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852014000400005
60. Sassi L, Patussi C, Ramos G, Bixofis R, Schussel J, Guebur M. Prevalence of oral lesions in elderly patients on oral cancer prevention campaigns in Parana state Brazil 1989-2013. *Brazilian Dent Sci* [Internet]. 2014;17(3):26-30. Disponible en: <http://ojs.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/983>
61. Alaejos C, Berini A, Gay C. Valoración de los métodos de tinción con azul de toluidina y lugol en el diagnóstico precoz del cáncer bucal. *Av en odontoesomatología* [Internet]. 1996;12(7):0. Disponible en: <http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/96710/1/114071.pdf>
62. Silva W, Lima A, Vasconcellos L, Anbinder A. Evaluation of dentists' knowledge of the use of oral exfoliative cytology in clinical practice. *Braz Oral Res* [Internet]. 2014;28(1):1-6. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bor/v28n1/1807-3107-bor-28-1-1807-3107BOR-2014vol280010.pdf>
63. Komali Y, Venkatesh V, Krishnanand S. Morphological Assessment of Oral Cytological Smears Before and After Application of Toluidine Blue in

- Smokers and Nonsmokers. *Int J Oral Maxillofac Pathol* [Internet]. 2012;3(1):8-14. Disponible en: <http://journalgateway.com/ijomp/article/view/241/528>
64. Da Silva C. Influência da condição bucal, hábitos e fatores sociodemográficos no padrão citológico da mucosa bucal normal [Internet]. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul; 2003. Disponible en: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/152972/000910314.pdf?sequence=1>
65. Da Silva C, Batista N, Jalfim B, Haas A, Visioli F, Varvaki P. Influence of factors in the oral mucosa maturation pattern: a cross-sectional study applying multivariate analyses. *Braz J Oral Sci* [Internet]. 2016;15(1):27-34. Disponible en: <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/es/BIBLIO-830998>
66. Jindal S, Chauhan I, Grewal HK. Alteration in buccal mucosal cells due to the effect of tobacco and alcohol by assessing the silver-stained nucleolar organiser regions and micronuclei. *J Cytol* [Internet]. 2013;30(3):174-8. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3793354&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
67. Kabiraj A, Khaitan T, Bhowmick D, Ginjupally U, Bir A, Chatterjee K. Screening of Oral Potentially Malignant Disorders Using Exfoliative Cytology: A Diagnostic Modality. *J Cancer Epidemiol* [Internet]. 2016;(1-4). Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/jce/2016/8134832/>
68. Ruiz G, Ojeda P, Di Giampietro L. Determinación del VPH en cavidad oral por técnica del hisopo. *Rev venez oncol* [Internet]. 2009;21(2). Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-05822009000200003
69. Reddy SS, Radha P, Devi BY, Chugh N, Kaur A, Thomas N. Prevalence of oral mucosal lesions among chewing tobacco users: A cross-sectional study. *India J Dent Res* [Internet]. 2015;26:537-41. Disponible en: <http://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970->

- 9290;year=2015;volume=26;issue=5;spage=537;epage=541;aulast=Reddy
70. Sekine J, Nakatani E, Hideshima K, Iwahashi T, Sasaki H. Diagnostic accuracy of oral cancer cytology in a pilot study. *Diagn Pathol* [Internet]. 2017;12(27):1-6. Disponible en: <http://diagnosticpathology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13000-017-0618-3>
 71. Curtis H, Barnes S, Schnek A, Flores G. *Biología*. 6ta Ed. España: Editorial Médica Panamericana; 2000. 127 p.
 72. Welsch U. *Histología*. 2da Ed. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana; 2009. 15-42 p.
 73. Stevens A, Lowe J. *Histología humana*. 3ra Ed. Madrid, España: Elsevier Mosby; 2006. 18 p.
 74. Ross M, Pawlina W. *Histología: Texto y atlas color con biología celular y molecular* [Internet]. 5ta Ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2007. 85 p. Disponible en: <https://books.google.co.ve/books?id=NxYmIRZQi2oC&lpq=PA80&dq=cromatina&pg=PA80#v=onepage&q=cromatina&f=false>
 75. Sánchez L. *Biología celular e Histología general*. 1era Ed. Mérida, Venezuela: Universidad de los Andes Consejo de Publicaciones; 1996. 63 p.
 76. Lodish H, Berk A, Zipursky L, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. *Biología Celular y Molecular*. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana; 2002. G-4.
 77. Geneser F. *Histología*. 3ra Ed. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana; 2000. 50 p.
 78. Nauth H. *Citodiagnóstico ginecológico* [Internet]. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2005. Disponible en: https://books.google.co.ve/books?id=F3VoaPjpwZgC&pg=PA182&lpq=PA182&dq=criterios+de+malignidad+de+las+celulas+en+una+citologia&source=bl&ots=lr5N_g_AOb&sig=8PMUn6EYpfVhT5dM4SMTTiUdhA4&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwjJ_--

AoejeAhWMwFkKHWCXBKg4FBD0ATAEgQIBRAB#v=onep

79. Ordi J. Anatomía patológica general [Internet]. Vol. 52. Universitat Barcelona, editor. Barcelona, España; 2012. 389 p. Disponible en: https://books.google.co.ve/books?id=3QGtBAAAQBAJ&hl=es&source=gbs_navlinks_s
80. Gómez M, Campos A. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. 3ra Edició. MéxicoD.F: Editorial Médica Panamericana; 2009. 138-146 p.
81. Fernández M, Regueira S, Torres M. Factores de riesgo modificables en algunos tipos de cáncer. Rev Electrónica Dr Zolo E Mar Vidaurreta [Internet]. 2016;41(11). Disponible en: <http://revzoilomarinello.sld.cu/index.php/zmv/article/view/940>
82. García V, Bascones A. Cáncer oral: Puesta al día. Av Odontoestomatol [Internet]. 2009;25(5):239-48. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v25n5/original1.pdf>
83. Scully C, Robinson NA. Oral Cancer. Int Encycl Public Heal [Internet]. 2017;4:668-77. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1071397/>
84. Warnakulasuriya S, Sutherland G, Scully C. Tobacco, oral cancer, and treatment of dependence. Oral Oncol. 2005;41(3):244-60.
85. Rivera C. Essentials of Oral Cancer. Review Article. Int J Clin Exp Pathol [Internet]. 2015;8(9):11884-94. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4637760/pdf/ijcep0008-11884.pdf>
86. De Almeida S, Do Espirito Santo A, Setúbal M, Sadigursky M. Cytologic alterations in the oral mucosa after chronic exposure to ethanol. Braz Oral Res [Internet]. 2006;20(2):97-102. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-83242006000200002
87. Cawson R., Odell E. Medicina y Patología oral. 8va Edició. Barcelona,

España: Elsevier; 2009.

88. Jarpa P. Medición del pH de 12 preparaciones distintas de pasta de tabaco de mascar , relacionándolas con la adición a la nicotina. Rev la Fac Farm [Internet]. 2003;45(2):7-11. Disponible en: https://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/23846/1/patricio_jarpaa.pdf
89. Jarpa P. Potencial mutagénico del tabaco de mascar venezolano. Rev la Fac Farm [Internet]. 2003;45(2). Disponible en: https://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/23838/patricio_jarpa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
90. Sánchez-garcía S, Juárez-cedillo T. Egresos hospitalarios por cáncer bucal en el IMSS (1991-2000). Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2008; 2000;46(1):101-8.
91. Rodríguez Ricardo C, Fernández S, Argelio K, González F, Ferrales R, Gómez J, et al. Evaluación del programa de detección precoz del cáncer bucal. Rev Arch Med Camagüey [Internet]. 2014;18(6):642-55. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=211132597007>
92. Gonzáles R, Herrera I, Osorio M, MADrazo D. Principales lesiones bucales y factores de riesgo pacientes en población mayor de 60 años. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2010;47(1):105-14. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v47n1/est09110.pdf>
93. Mello FW, Miguel AFP, Dutra KL, Porporatti AL, Warnakulasuriya S, Guerra ENS, et al. Prevalence of oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis. Vol. 47, Journal of Oral Pathology and Medicine. 2018. 633-640 p.
94. Franch C. Prevalencia de lesiones de mucosa oral en adultos de 35-44 y 65-74 años en Chile [Internet]. Universidad de Chile; 2017. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/144071>
95. Alvarez G, Alvarez E, Jiménez R, Mosquera Y, Gaviria AM, Garcés A, et al. Reverse smokers's and changes in oral mucosa. Department of Sucre, Colombia. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2008;13(1):1-8.

96. Ceccotti E, Sforza R, Carzoglio J, Luberti R, Flichman J. El diagnóstico en clínica estomatológica. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medica Panamericana; 2007. 293-307 p.
97. Hernández C, Fuentes B, Cartes R. Queilitis actínica: Aspectos histológicos, clínicos y epidemiológicos. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2016;53(2):45-55. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v53n2/est07216.pdf>
98. Guzmán P, Villaseca M, Antonio L, Araya J, Aravena P, Cravero C, et al. Carcinoma epidermoide oral y orofaríngeo . Estudio clínico-patológico. Rev Chil Cir. 2011;63:250-6.
99. Hayama FH, Motta ACF, De Padua G Silva A, Migliari DA. Preparaciones de base líquida vs. citología convencional: Adecuación de las muestras y coincidencia de diagnóstico en lesiones orales. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2005;10(2):115-22.
100. Pérez M, Somoza J, Barros F, Reboiras P, Gándara J, Gándara R, et al. Exfoliative cytology for diagnosing oral cancer. Biotech Histochem. 2010;85(3):177-87.
101. Calanche I, Rivas C. Manual de histopatología básico para odontólogos. Primera Ed. Mérida, Venezuela: Editorial Litorama; 2002.
102. Hernández R, Solís M, Gávez G, Ríos J, Gómez Y, Quezada D. Citología exfoliativa y biopsia de cavidad bucal [Internet]. Primera Ed. UNAM, editor. Zaragoza, España; 2000. Disponible en: https://books.google.co.ve/books?id=qFGQK7JaFRcC&source=gbs_navlinks_s
103. Hernandez R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. Cuarta Edi. Mexico: Editorial McGraw-Hill Interamericana; 2006.
104. Ramon-Torrell J. Métodos de investigación en Odontología. Barcelona, España: Masson; 2000.
105. Mundial La Asociación Médica. Declaración de Helsinki de la AMM- Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. 64ª Asamblea General, 10 Fortaleza, Brasil; 2013 p. 1-9. Disponible en:

<http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-investigacion/fd-evaluacion/fd-evaluacion-etica-investigacion/Declaracion-Helsinki-2013-Esp.pdf>

106. Iype EM, Pandey M, Mathew A, Thomas G, Sebastian P, Nair MK. Oral cancer among patients under the age of 35 years. J Postgrad Med. 2001;47(3):171-6.
107. García MJ. Técnico Especialista en Anatomía Patológica Del Servicio Gallego de Salud (SERGAS) [Internet]. MAD-Eduforma, editor. Sevilla; 2006. Disponible en: <https://books.google.co.ve/books?id=v3WY1x7FCHAC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

www.bdigital.ula.ve

APÉNDICES

Apéndice A



Frecuencia de cambios citológicos potencialmente malignos en pacientes con mucosa bucal clínicamente sana en el Ambulatorio El Llano del Edo. Mérida

Responsables: Br. Yina Briceño, Br. Xiomara Rodríguez.

Tutora: Od. Eduvigis Solórzano; **Cotutor:** Dr. Alejandro Pereira

CONSENTIMIENTO INFORMADO

A continuación se le explicará en que consiste y los alcances de la investigación, puede realizar todas las preguntas que considere y si luego de tener clara su participación en la investigación desea participar, debe firmar el presente documento de consentimiento informado.

El cáncer oral es la neoplasia maligna más frecuente en la región de la cabeza y cuello, siendo la mayoría carcinomas de células escamosas. Una parte significativa de los carcinomas orales de células escamosas se desarrollan a partir de lesiones pre malignas, observables clínicamente, pero, la gran mayoría surge a partir de mucosa clínicamente normal en donde se desarrolla a partir de signos microscópicos una connotación pre maligna como la displasia oral epitelial, y/o transformación del tipo de queratinización del epitelio. Por lo que se hace indispensable el manejo de técnicas de diagnóstico precoz para el detectar cambios potencialmente maligno en mucosa bucal clínicamente sana.

En este sentido, en esta investigación se aplicarán 2 técnicas: la primera, para diagnóstico macroscópico, donde se implementará un protocolo que incluye enjuagues con ácido acético 1% (vinagre diluido) y azul de toluidina al 1% (un colorante). Para la segunda técnica, se tomará la muestra para la citología con un cepillo especial (citobrush), se procesarán las muestras con tinción de Papanicolau y se observará en el microscopio. En caso de haber un resultado positivo de cambios potencialmente maligno se le contactará al paciente para remitirlo al especialista.

El procedimiento será no invasivo, fácil, rápido e indoloro. No se lastimará en ningún sentido a paciente. Como efectos secundarios: puede haber una coloración temporal de la cavidad bucal debido al azul de toluidina y mal sabor por el ácido acético, que desaparecerán en breve tiempo.

La participación en este estudio será voluntaria, y absolutamente confidencial, usted puede o no aceptar, sin que esto implique ninguna amonestación. La investigación proporcionará información valiosa para la educación y formación profesional de los futuros odontólogos y para la comunidad científica con la publicación de los resultados obtenidos

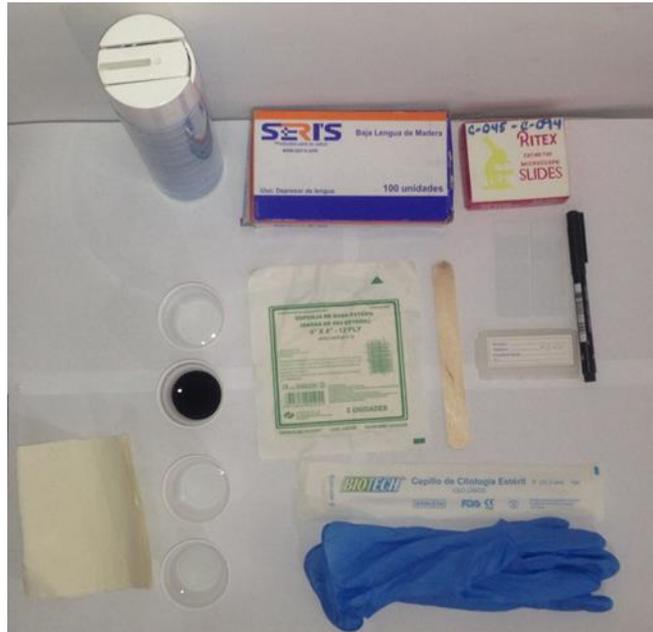
Yo, _____, mayor de edad, titular de la cédula de identidad número _____, y en el pleno uso de mis facultades mentales, he leído y comprendido este documento, y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria, autorizo a participar voluntariamente en el estudio.

Firma y cédula del participante

Nosotros, los encargados de esta investigación, hemos explicado los propósitos de la misma y los beneficios que implica su participación, cualquier duda puede comunicarse con Yina Briceño y Xiomara Rodríguez al número de teléfono (0414 5410780).

Firma de los encargados de la investigación

Apéndice B: Materiales para la toma de citología bucal.



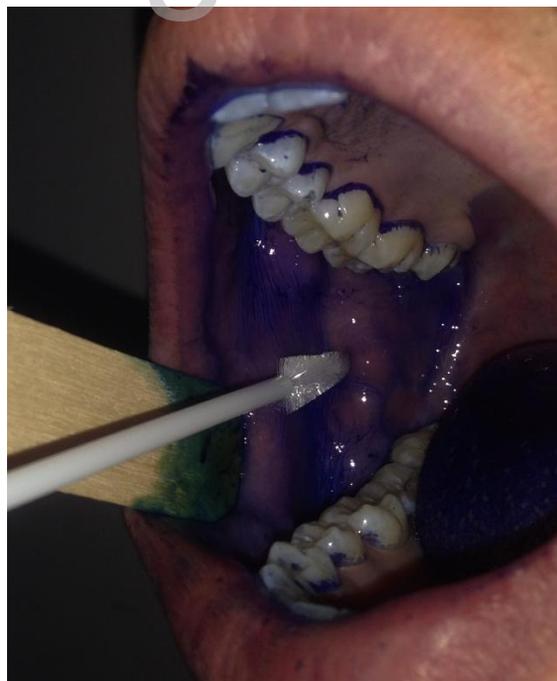
Apéndice C: Evaluación clínica: carrillo derecho



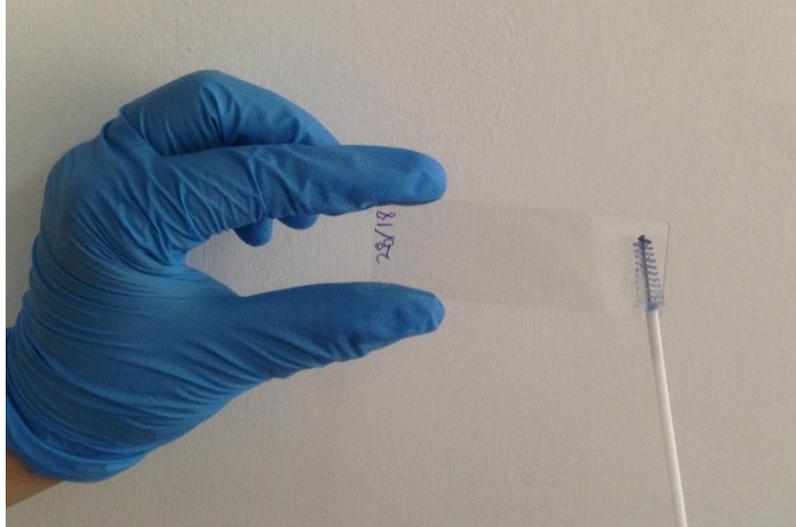
Apéndice D: Evaluación clínica: carrillo Izquierdo.



Apéndice E: Toma de muestra citológica en carrillo derecho



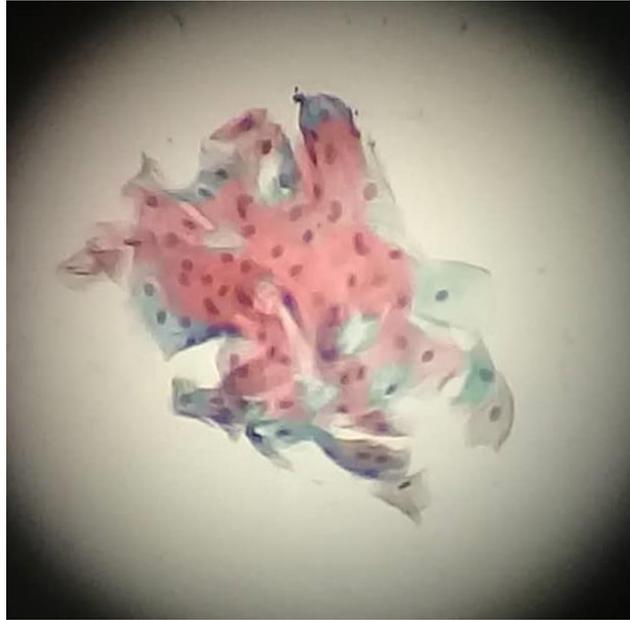
Apéndice F: Extendido citológico



Apéndice G: Fijación de la muestra

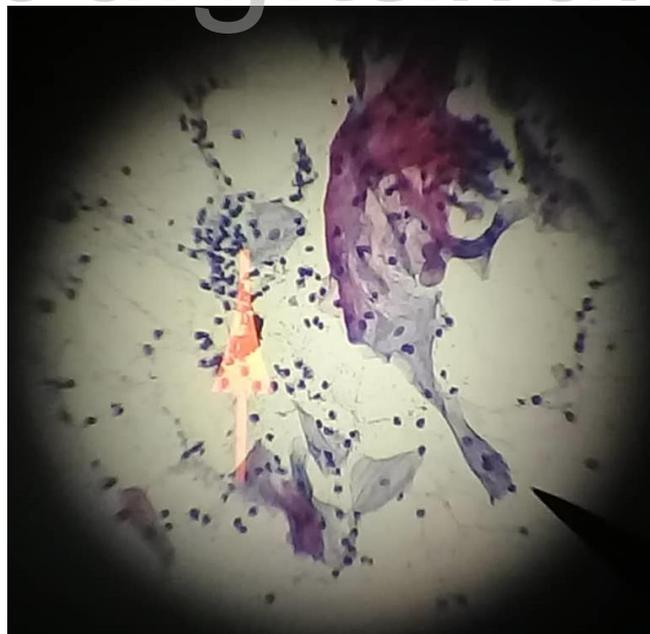


Apéndice H: Citología clase I

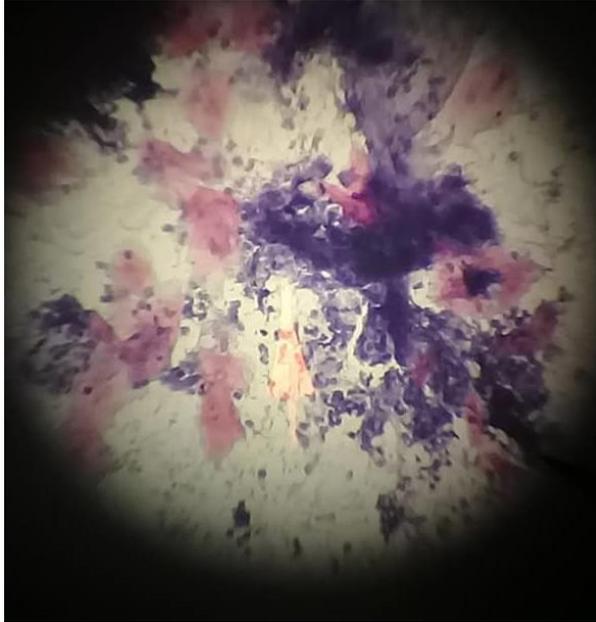


www.bdigital.ula.ve

Apéndice I: Citología Clase II



Apéndice J: Citología clase III



www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

Anexo 1

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
CATEDRA DE PATOLOGIA CLINICA Y TERAPEUTICA
ESTOMATOLOGICA**

FICHA CLINICA

N° _____

Paciente: _____ Sexo: _____

Edad: ____ Ocupación: _____ Procedencia: _____

Estado Civil: _____ Dirección: _____

Teléfono: _____ Fecha: _____

1. Aspecto General Extraoral del Paciente (CABEZA Y CUELLO)

2. Aspecto general de la boca:

Labios: _____ Carrillos: _____

Lengua: _____

Periodonto: _____

Bóveda Palatina: _____

Región Sublingual – Piso de Boca: _____

Faringe – Oro Faringe: _____

Anexo 2

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOPATOLOGÍA**

N° de H.C: _____

FECHA:

/ /

FICHA CLÍNICA

La siguiente información se basa en el interrogatorio y exploración clínica de los pacientes que participan en el estudio titulado: **FRECUENCIA DE CAMBIOS CITOLÓGICOS POTENCIALMENTE MALIGNOS EN PACIENTES CON MUCOSA BUCAL CLÍNICAMENTE SANA EN EL AMBULATORIO EL LLANO DEL EDO. MÉRIDA.**

Apellidos: _____ Nombres: _____
Dirección: _____
Teléfono: _____ Edad: _____

Hábitos:

1. ¿Fuma?	A. SI____ NO____	B. ¿Con que frecuencia?	<ul style="list-style-type: none">• Todos los días _____• Esporádicamente _____
------------------	---------------------	-------------------------	--

<p>2. ¿Consumes chimo?</p>	<p>A. SI___ NO___</p>	<p>B. ¿Con que frecuencia?</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Todos los días _____ • Esporádicamente _____
<p>3. ¿Consumes alcohol?</p>	<p>A. SI___ NO___</p>	<p>B. ¿Con que frecuencia?</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Todos los días _____ • Esporádicamente _____

www.bdigital.ula.ve

Firma del paciente

Anexo 3
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA ORAL
CÁTEDRA DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

CITOLOGÍA EXFOLIATIVA

NOMBRE: _____

MUESTRA DE _____ H.C.N° _____

ENVIADA POR _____

SERVICIO _____

RESULTADO:

CLASE I: Normal.

CLASE II: Probablemente normal.

CLASE III: Dudoso.

CLASE IV: Probablemente maligno.

CLASE V: Maligno.

OBSERVACIONES _____
