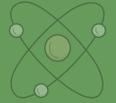


Valor diagnóstico de la citología exfoliativa para el cáncer bucal.

Diagnostic value of exfoliative cytology for oral cancer.



RESUMEN

CRIT (Comité Regional de Investigación Tumoral)
LBMB (Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología)
Facultad de Odontología - UNLP
Calle 50 e/ Av. 1 y 115 La Plata (1900).
Bs. As. Argentina
comite.tumoral.folp@gmail.com
Financiamiento: Universidad Nacional de La Plata

Autores: Mayocchi, K; Arcuri, M; Giménez, J;
Arcuri, A; Mayocchi M; Blasetti, N; Levalle, M;
Darrigran, L, Sirimarco, K; Echeverría, N;
Molina, M; De Vita, L.

La citología exfoliativa bucal (CEB) permite el estudio e interpretación de las características de las células que se descaman, natural o artificialmente de la mucosa bucal. La técnica consiste en observar al microscopio óptico la morfología de las células epiteliales superficiales mediante la técnica de obtención, fijación y tinción. El objetivo de este trabajo es validar la CEB para el diagnóstico precoz del cáncer bucal. Se realizó un estudio descriptivo, observacional y transversal de 12 CEB en pacientes con sospecha clínica de transformación maligna provenientes del Hospital Odontológico Universitario y CRIT (Comité Regional de Investigación Tumoral) de la Facultad de Odontología de la UNLP y en coordinación con el Servicio de Anatomía Patológica y LBMB (Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología FOLP-UNLP) en el período comprendido entre agosto-septiembre del 2022. La selección se realizó mediante muestreo no probabilístico según criterios de inclusión y exclusión. Los resultados arrojaron signos de atipias celulares compatibles con carcinoma a células escamosas en un caso, en forma superficial e intraoperatoria, y se describen las características celulares de CEB en reacción liquenoide, leucoplasia clínica y ulcera traumática. Coincidimos con numerosos autores en que la CEB no sustituye la biopsia y su estudio anatomopatológico, sino que complementa y contribuye al estudio de la citomorfometría tumoral y a la toma de decisiones acortando los tiempos de espera.

PALABRAS CLAVE: CITOLOGÍA - MUCOSA BUCAL - CÁNCER

SUMMARY

Oral exfoliative cytology (EBC) allows the study and interpretation of the characteristics of the cells that are naturally or artificially desquamated from the oral mucosa. The technique consists of observing the morphology of the superficial epithelial cells under an optical microscope using the technique of obtaining, fixing and staining. The objective of this work is to validate the CEB for the early diagnosis of oral cancer. A descriptive, observational and cross-sectional study of 12 CEB in patients with clinical suspicion of malignant transformation from the University Dental Hospital and CRIT (Regional Tumor Research Committee) was carried out.) of the Faculty of Dentistry of the UNLP and in coordination with the Pathological Anatomy Service and LBMB (Molecular Biology and Biotechnology Laboratory FOLP-UNLP) in the period between August-September 2022. The selection was made through non-probabilistic sampling, according to inclusion and exclusion criteria. The results showed signs of dysplasia and cellular atypia compatible with squamous cell carcinoma in one case, superficially and intraoperatively, and the cellular characteristics of CEB in lichenoid reaction, clinical leukoplakia and traumatic ulcer are described. We agree with numerous authors that CEB does not replace the biopsy and its anatomopathological study, but rather complements and contributes to the study of tumor cytomorphometry and decision-making by shortening waiting times.

KEYWORD: CYTOLOGY - BUCCAL MUCOSA - CANCER

INTRODUCCIÓN

La citología exfoliativa bucal (CEB) se define como el estudio e interpretación de las características de las células que se descaman, natural o artificialmente de la mucosa. La técnica consiste en observar al microscopio óptico la morfología de las células epiteliales superficiales después de su toma, fijación y tinción¹. La mucosa bucal expresa una gran variedad de patologías sistémicas, y muchas veces también con compromiso cutáneo, entre ellas, líquenes orales planos, leucoplasia, candidiasis, queratosis, papilomas, úlceras traumáticas, infecciones por VPH, entre otras. La leucoplasia y liquen, con y sin infección por VPH, forman parte del grupo de DPM "Desordenes Potencialmente Malignos" de la

mucosa bucal. En ellos pueden observarse distintas atipias celulares que conforman grados de displasia epitelial, en cambio, en el cáncer bucal, ocurren una serie de acontecimientos caracterizados por una acumulación secuencial de defectos genéticos seguidos de una proliferación por clonación. Los procesos neoplásicos se inician en un epitelio que se va transformando en hiperplásico, displásico, carcinoma in situ y finalmente en carcinoma invasivo¹. La CEB muestra alteraciones morfológicas relevantes que coinciden con patrones de carcinogénesis mencionados en la literatura. La forma y variación en el tamaño del núcleo, la relación núcleo citoplasma, son indicadores de cambios relacionados con la carcinogénesis^{1,2,5}. Si bien la CEB es una técnica sencilla, no agresiva, relativamente indolora y bien aceptada por los pacientes, su uso para el diagnóstico de atipias epiteliales y especialmente del carcinoma bucal de células escamosas ha perdido importancia, atribuyéndole una baja sensibilidad debida a numerosos factores, entre ellos la toma inadecuada de la muestra, error en la técnica de muestreo e interpretación subjetiva de los hallazgos citológicos¹. El advenimiento del análisis cuantitativo, la citomorfología, el análisis del ADN, la detección de marcadores tumorales y los métodos de diagnóstico molecular han contribuido a revalorar esta técnica. En nuestro país, la CEB, no se utiliza en forma sistemática como método de prevención, diagnóstico ni seguimiento de condiciones patológicas bucales⁵. Respecto a la citomorfometría, las técnicas cuantitativas, basadas en la valoración de parámetros como las variaciones del tamaño del núcleo y del citoplasma y en alteraciones en la relación núcleo/citoplasma, pueden aumentar la sensibilidad diagnóstica de la CEB en el diagnóstico precoz del cáncer oral por ser una técnica objetiva, precisa y reproducible¹. La disminución del área del citoplasma precede a un aumento del área del núcleo en los tejidos que sufren transformación maligna, y los valores citométricos normales en la mucosa sana del mismo paciente proporciona la muestra control. También la literatura relata su aplicación en el seguimiento de lesiones malignas después del tratamiento definitivo y en la detección de recurrencias tumorales¹. Respecto a la identificación de marcadores tumorales mediante inmunohistoquímica en células exfoliadas de la cavidad bucal, ha recibido un especial interés, como el patrón de expresión de las citoqueratinas. Las mismas aportan datos sobre el estado de diferenciación celular, pero su potencial diagnóstico en la detección precoz del cáncer bucal es limitado, ya que un marcador de queratina puede modificarse en las lesiones malignas y no estar presente en la mucosa bucal normal. La identificación de algunas citoqueratinas, como K8 y K19, pueden ser un importante indicador de una lesión maligna, particularmente si está asociada con otros marcadores, como el perfil de ADN². La mutación del gen supresor de tumor p53 es uno de los cambios genómicos más frecuentes en el cáncer humano. De acuerdo con la mayoría de los estudios, la p53 no es detectada en la mucosa bucal normal, pero puede ser demostrada a través de técnicas inmunohistoquímicas en el carcinoma de células escamosas y DPM. De la misma forma ha sido identificada en células de tumores malignos, obtenidas por citología exfoliativa, pero no en mucosa normal⁵. Sin embargo, la demostración inmunohistoquímica de la proteína p53 no se puede asumir como un marcador absoluto de mutaciones del gen p53, puesto que ésta puede ser resultado de la estabilización de la proteína p53 salvaje (no mutada)⁵. En relación al análisis molecular, estamos viviendo la transición entre los métodos de diagnóstico desde el nivel histopatológico al nivel molecular, por lo que la CEB recobra importancia como método rápido y fácil de conseguir muestras de ADN. La pérdida de heterocigocidad (LOH) y otros cambios moleculares que participan en la carcinogénesis bucal pueden ser identificados en células exfoliadas mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para amplificar el ADN para el análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) en carcinomas bucales. Esta técnica puede ser útil en el diagnóstico precoz y en el seguimiento de los pacientes con cáncer bucal. El análisis molecular

puede convertirse en una técnica esencial en el diagnóstico y manejo del cáncer bucal. El uso de estos marcadores moleculares permitirá el diagnóstico precoz, identificando cambios antes de que éstos sean clínicamente visibles, así como la valoración de la progresión y su tratamiento oportuno, lo que permitirá realizar screening y ser aplicados a programas preventivos. En relación a la toma de la muestra el uso del Citobrush parece aumentar el número de células recogidas por muestra y permite una mejor distribución de las mismas en el portaobjetos, lo que podría aumentar la sensibilidad de la técnica. En los últimos años se ha utilizado un procedimiento diagnóstico de lesiones bucales malignas, llamado "Brushbiopsy", en la cual se realiza la toma en el espesor de la mucosa y en forma intraoperatoria, permitiendo recoger material representativo de las lesiones. 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 anómalas⁶.

OBJETIVO

- Validar la citología exfoliativa bucal para el diagnóstico precoz del cáncer bucal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, observacional y transversal de 12 Citología Exfoliativa de la Mucosa Bucal en pacientes con sospecha clínica de transformación maligna provenientes del Hospital Odontológico Universitario y CRIT (*Comité Regional de Investigación Tumoral*) de la Facultad de Odontología de la UNLP y en coordinación con el Servicio de Anatomía Patológica y LBMB (*Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología FOLP-UNLP*) en el período comprendido entre agosto-septiembre del 2022. La selección se realizó mediante muestreo no probabilístico según criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión:

- Pacientes con consentimiento informado para su atención e HCl.
- Pacientes que presentaron lesiones localizadas solamente en la mucosa de la cavidad bucal clínicamente detectables con diagnóstico presuntivo de DPM o Carcinoma a Células Escamosas y con indicación de biopsia.
- Pacientes que presentaron lesiones que afectaron la integridad de la mucosa bucal, de manera tal que se produjera desprendimiento celular al cepillado.
- Pacientes que en la biopsia pueda obtenerse material para citología intraoperatoria.

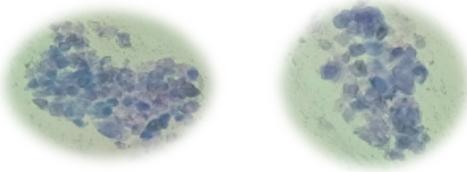
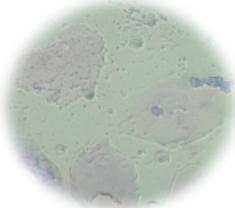
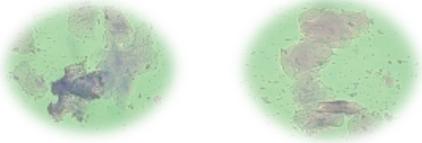
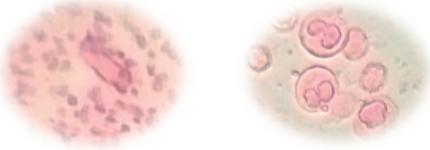
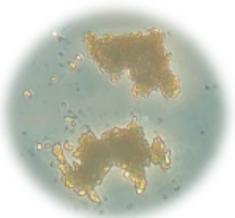
Criterios de exclusión:

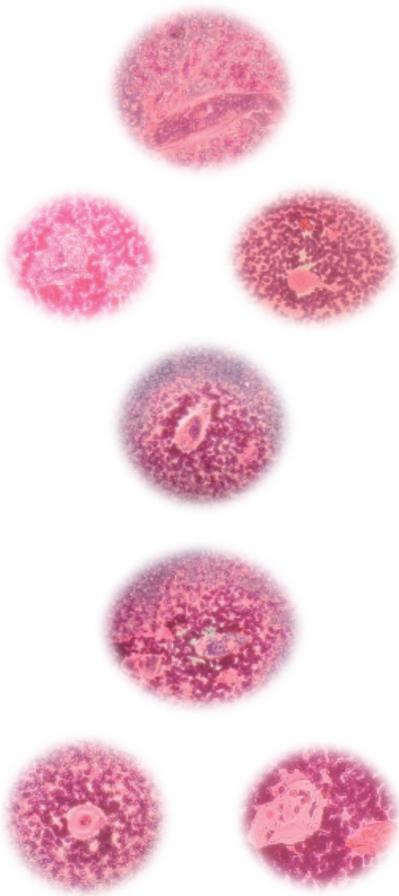
- Pacientes con diagnóstico de certeza de otras instituciones.
- Pacientes ya biopsiados con resultado negativo para lesiones malignas.
- Pacientes con resultados negativos para anteriores CEB.

En el CRIT se realizó la CEB de los pacientes seleccionados una vez realizados los procedimientos preoperatorios y de antisepsia bucal. Se utilizó citobrush y se expandió el material en forma longitudinal sobre dos portaobjetos previamente nombrados, se colocaron sendos portaobjetos en alcohol 96% para su fijación. Como la literatura recoge como factor de subjetividad el operador, las muestras citológicas son tomadas por el mismo operador. Las muestras fueron enviadas al LBMB para su procesamiento. La tinción se realizó mediante técnica de H-E y Giemsa, la observación mediante Microscopio Leica 1000, Óptico y por Contraste de fases. Posterior a la citología, se procedió a la toma de biopsia incisión colocando la misma en frasco con formaldehído al 10%. Las citologías fueron remitidas al LBMB para su procesamiento y observación y las biopsias al Servicio de Anatomía Patológica. Sólo un caso fue seleccionado para la toma de citología superficial y citología intraoperatoria⁶.

RESULTADOS

| CÉLULAS NORMALES DE LA MUCOSA BUCAL. CARACTERÍSTICAS ³ | | | | |
|---|----------|------------|--------------------|-----------|
| | TAMAÑO | CITOPLASMA | NÚCLEO | FORMA |
| Basales | pequeñas | azulado | grande/redondeado | cúbica |
| Espinoso | medio | azulado | mediano/redondeado | poligonal |
| Granuloso | grande | rosado | pequeño | aplanada |
| Córneo | pequeñas | rojo | ausente | aplanada |

| CITOLOGÍA EXFOLIATIVA DE LA MUCOSA BUCAL. RESULTADOS | | |
|---|---|--|
| Observación | Descripción | Diagnóstico Clínico |
|  | <p>1 CEB con células del estrato superficial, aplanadas, con citoplasma basófilo, núcleos pequeños centrales, picnóticos. Coloración Giemsa. X400</p> | <p>Reacción liquenoide. 1° citología.</p> |
|  | <p>1 CEB donde se observan signos de displasia. Aumento del tamaño nuclear, se invierte relación Núcleo/citoplasma. Hiperchromatismo nuclear e hiperchromasia de la membrana nuclear. Marginación de la cromatina. Cariorexis. Presencia de nucléolos acidófilos. Multinucleación. Coloración Giemsa. X 100</p> | <p>Carcinoma a células escamosas (CEB en superficie de paladar).</p> |
|  | <p>4 CEB con células del estrato superficial, aplanadas, con núcleos picnóticos y otras anucleadas. X 400</p> | <p>Descripción morfológica de estrato superficial.</p> |
|  | <p>1 CEB con células parabasales, se encuentran nucléolos y núcleos centrales. Citoplasma azulado. Coloración Giemsa. X 400</p> | <p>Reacción liquenoide (2° CEB).</p> |
|  | <p>1 CEB con células con cambio citoplasmáticos, presencia de polimorfonucleares. Coloración H-E. X400</p> | <p>Úlcera Traumática.</p> |
|  | <p>2 CEB con células descamadas superficiales anucleadas. Contraste de fases.</p> | <p>Leucoplasia Clínica.</p> |
|  | <p>1 CEB con célula del estrato granuloso, núcleo pequeño. Se observa hifa compatible con Candida albicans. Microscopia de contraste de fases.</p> | <p>Candidiasis lingual.</p> |

| | | |
|--|---|--|
|  | <p>1 CEB con signos de displasia con presencia de atipias celulares en medio de un estroma reactivo. Células en raqueta Pérdida de relación núcleo-citoplasma. Hiperchromatismo. Polimorfismo. Monstruosidad nuclear. Caos nuclear. Multinucleación. Mitosis anómalas. Puede observarse el estroma reactivo. Coloración H-E. X400</p> | <p>Carcinoma a células escamosas. CEB intraoperatoria.</p> |
|--|---|--|

CONCLUSIONES

La CEB mostró alteraciones morfológicas coincidentes con el mecanismo de carcinogénesis mencionados en la literatura. La CEB es una técnica rápida, sencilla, no agresiva y de gran ayuda para la detección de anomalías celulares en forma temprana. Su valor diagnóstico se ha puesto de relevancia actualmente mediante la aplicación de citomorfometría mediante software, secuenciación del ADN y análisis molecular que aumentan su sensibilidad para el diagnóstico temprano del cáncer bucal, y también permite realizar un screening de la población para el seguimiento y control de lesiones de la mucosa bucal, o seguimiento post-tratamiento oncológico. Coincidimos con numerosos autores en que la CEB no sustituye la biopsia y su estudio anatomopatológico, sino que complementa y contribuye al estudio de la citomorfometría tumoral y a la toma de decisiones acortando los tiempos de espera.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Diniz-Freitas M, García-García A, Crespo-Abelleira A, Martins Carneiro JL, Gándara-Rey JM. Aplicaciones de la citología exfoliativa en el diagnóstico del cáncer oral. *Med Oral* 2004; 9:355-61. © Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - ISSN 1137 - 2834.
2. Sánchez LB; Canto Pérez, M; Artilés Martínez D; Rodríguez Jiménez R; Durán Morales D. Citología Exfoliativa en el diagnóstico precoz del cáncer bucal. *Acta Médica del Centro* 2021. / Vol. 15 No. 3.
3. Grinspan, D. *Enfermedades de la boca*. Tomo 1: 459-469. 1976. Editorial Mundi. Argentina
4. Pereda Rojas ME, González Cardona Y, Torres Herrera LW. Actualización sobre liquen plano bucal. *CCM [Internet]*. 2016 Jul-Sep [citado 20/10/2018];20(3):539- 51.
5. Brunotto M, Zárate AM, Cismondi A, Fernández MC, Noher de Halac RI. Valuation of exfoliative cytology as prediction factor in oral mucosa lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005;10: Suppl2:E92-102. © Medicina Oral S. L. C.I.F. B 96689336 - ISSN 1698-4447.
6. Fonseca MM; Gendelman H. La citología "por desgarro" como método de diagnóstico en lesiones sospechosas de malignidad de la cavidad bucal. *Revista de la Facultad de Odontología. UNC*. 1978. Vol. 10 - N9 2.