

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

CITOLOGIA EXFOLIATIVA DE LA  
CAVIDAD ORAL PARA EL DIAGNOSTICO  
PRECOZ DEL CANCER

T E S I S

PRESENTADA POR

ALEJANDRO RENE HUEZO TRIGUEROS

PREVIA OPCION AL TITULO DE

DOCTOR

EN CIRUGIA DENTAL

FEBRERO, 1969.



SAN SALVADOR,

EL SALVADOR,

CENTRO AMERICA.

676.99437

H 888C

1969

F. O

G: 3

UES BIBLIOTECA CENTRAL



INVENTARIO: 10126149

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

DR. JOSE MARIA MENDEZ

SECRETARIO GENERAL

DR. JOSE RICARDO MARTINEZ

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

DECANO

DR. JULIO EDUARDO MENDEZ

SECRETARIO

DR. RICARDO ACEVEDO

JURADOS DEL EXAMEN PUBLICO

PRESIDENTE: DR. MARIO AMAYA DIAZ

1er. VOCAL: DR. JUAN JOSE COSTA

2o. VOCAL: DR. FRANCISCO PLATERO H.

En el Decanato de la Facultad de Odontología:

San Salvador, a las nueve horas del día 26 de Febrero de mil novecientos sesenta y nueve. Reunidos los suscritos miembros del jurado nombrado para calificar la tesis doctoral presentada por el bachiller ALEJANDRO RENE HUEZO TRIGUEROS titulada "CITOLOGIA EXFOLIATIVA DE LA CAVIDAD ORAL PARA EL DIAGNOSTICO PRECOZ DEL CANCER" por unanimidad de votos ACUERDAN a) Aprobar el trabajo sometido a su consideración y b) Considerar al alumno capaz de defenderla, después de haberlo sometido al examen que prescribe el Reglamento respectivo. No habiendo más que hacer constar se termina esta acta que firmamos.

**DR. MARIO AMAYA DIAZ**  
PRESIDENTE

**DR. JUAN JOSE COSTA**  
PRIMER VOCAL



**DR. FRANCISCO PLATERO**  
SEGUNDO VOCAL

DEDICATORIA

DEDICO ESTA TESIS Y EL ACTO DE MI DOCTORAMIENTO

A mi querida Abuela

MARIA V. DE TRIGUEROS

A mi Madre

DORA T. V. DE HUEZO

A la memoria de mi Padre

JUAN OBDULIO HUEZO

A todos mis familiares.

## AGRADECIMIENTO

A todas y cada una de las personas que con su valiosa ayuda hicieron posible la realización de la presente Tesis, a quienes viviré agradecido.

## **C O N T E N I D O**

- I** **Introducción**
- II** **Revisión de Bibliografía**
  - A)** **Historia de la Citología Exfoliativa**
  - B)** **Importancia del Examen de Laboratorio**
  - C)** **Indicaciones y Usos de la Citología Oral**
  - D)** **Técnicas y Métodos para el Examen de Citología Oral**
  - E)** **Criterio de Malignidad en la Citología Exfoliativa**
  - F)** **Delineación del Criterio General de Malignidad**
  - H)** **Fuentes de Error en el Estudio Citológico**
  - I)** **Clasificación de los Resultados Citológicos**
  - J)** **Efectos de la Radiación en Citología Oral**
- III** **Investigaciones sobre Citología Oral.**
- IV** **Presentación de los Datos Originales de la Investigación, Discusión e Interpretación de los mismos**
  - a)** **Materiales y Métodos Empleados durante la Investigación**
  - b)** **Resultados obtenidos, Discusión e Interpretación de los mismos**
- V** **Resumen**
- VI** **Conclusiones**
- VII** **Bibliografía**

## C A P I T U L O I

### INTRODUCCION

En la actualidad ha habido un gran aumento de la incidencia del cáncer oral en nuestro país, muchas veces con fatales consecuencias, ya sea por el tipo de neoplasia maligna que se presenta o porque se ha diagnosticado en una etapa muy avanzada de su desarrollo, siendo inútil cualquier tratamiento ya sea éste quirúrgico, quimioterápico o por medio de radiaciones. La mayoría de las veces su evolución ha sido fatal por haberse diagnosticado en una etapa tardía, cuando ya ha producido metástasis en otros órganos del cuerpo humano o cuando ya ha abarcado grandes superficies orales, haciendo imposible cualquier clase de tratamiento que no sea el sintomático.

Es por estas razones principalmente, además de otras que luego expondré, es que me he interesado por investigar el grado de veracidad de un examen que permita diagnosticar las neoplasias, sean éstas malignas o benignas, en una etapa temprana de desarrollo para poder así llevar a cabo un tratamiento eficaz y consecuentemente un buen pronóstico. Este examen de diagnóstico es la Citología Exfoliativa, conocida y aplicada desde el siglo pasado casi exclusivamente para diagnosis de neoplasias del aparato genital femenino y últimamente, teniendo en cuenta sus buenos resultados, en la cavidad oral.

En el presente trabajo haré ver las bondades de este método en la lucha contra el cáncer y expondré casos en que fue de gran ayuda para su diagnóstico, esperando que esto y los demás resultados de la investigación, sirvan para que Odontólogos y demás personas interesadas, utilicen la Citología Exfoliativa como un medio rutinario de

diagnóstico cuando se encuentren ante lesiones que los hagan sospechar una neoplasia incipiente.

Al hacer el presente trabajo de investigación uno de los objetivos que me guían a ello es el determinar el grado de confianza que el Cirujano Dental puede depositar en los exámenes de Citología, ya que en la actualidad, sea por falta de conocimiento de investigaciones anteriores o por experiencias personales aisladas que no han llevado a un diagnóstico y tratamiento correcto, son frecuentemente poco usados.

Al presentar los resultados obtenidos y las conclusiones a que se ha llegado, espero que el lector valore la importancia de la Citología Exfoliativa en el diagnóstico precoz del Cáncer Oral y lo estimule a adoptar dichos exámenes. Espero también que le de un criterio más amplio y una base más sólida para su aplicación.

En resumen, lo que se ha deseado al llevar a cabo esta investigación es que el lector juzgue, basándose en datos, el valor que puede tener la Citología Exfoliativa en el diagnóstico y tratamiento del Cáncer Oral, quedando luego, a su criterio, el empleo de estos exámenes cuando el caso así lo amerite.

Se quiere dejar constancia de que no pensamos que esta investigación venga a despejar todas las incógnitas existentes, ni mucho menos que se le es que sirva para alentar a otras personas a investigar y utilizar este campo poco explorado y a poner un grano de arena en el conocimiento de la Citología Exfoliativa Oral. Si esta finalidad, junto con la valoración conciente de los resultados de la investigación para el empleo de este examen como medio de diagnóstico, se cumplen, será la mayor recompensa al presente trabajo.



## CAPÍTULO II

### REVISION DE BIBLIOGRAFIA

#### A) HISTORIA DE LA CITOLOGIA EXFOLIATIVA

El estudio de las células exfoliadas se remonta desde mediados del siglo XIX cuando Walsh, en 1843, observó pequeños fragmentos de tejidos espectorados provenientes de crecimientos malignos del tracto respiratorio. En 1847 Pouchet en su libro concerniente a la ovulación y otros fenómenos relacionados a ella, reportó sus observaciones de las células tomadas de las secreciones de la vagina humana. Sus observaciones fueron limitadas a la Citología normal. Uno de los estudios de referencia más antiguos de células descamadas para el diagnóstico del cáncer es el de Beale en 1860 quien informó sobre el descubrimiento de células malignas en el esputo de un caso de cáncer de la laringe.

En 1876-77, Hampeln informó sobre el descubrimiento de células malignas en la secreción de esputo fresco de casos de carcinomas del pulmón, lo mismo que Menetrier en 1886 y Betschardt en 1895.

También se utilizaron secreciones citológicas de otros fluidos del cuerpo para el diagnóstico cuando se pensaba en malignidad. Así Sanders en 1864 informó haber encontrado fragmentos de tejido maligno en la orina de un paciente con cáncer en la vejiga. Posteriormente Dickinson en 1869 efectuó más observaciones en células de la examen microscópico de los sedimentos de la orina como el mejor método de diagnóstico del tumor de la vejiga después de la Citoscopia. Luecke y Klebs en 1867 encontraron células malignas en secreciones de fluidos ascísticos en casos de tumores malignos del ovario. Más tarde en 1875 y en 1882 Quincke usó el principio en el examen de la transudación y exudación para encontrar células cancerosas. sin embargo pronto se reemplazó el uso de secreciones en estos casos por sección de células sedimentadas tal como lo descubrió Bahrenberg en 1895. Desde entonces ha habido numerosas contribuciones hechas por otros investigadores que han estudiado la Citología de varios fluidos del cuerpo, especialmente para establecer una norma para el diagnóstico del cáncer de diversos órganos.

Originalmente la técnica de las secreciones vaginales fue empleada para analizar el ciclo sexual del cerdo de Guinea. Su valor como método para determinar la morfología y el estado funcional de

los órganos reproductores femeninos llevó a su adopción general como método normal para el estudio del ciclo sexual de mamíferos femeninos y de problemas relacionados con la Fisiología sexual y la Endocrinología. Esto inauguró una nueva era de actividad sin precedentes que trajo consigo importantes progresos en esta área. Mucho del progreso que ha sido alcanzado para lograr una comparación de los ciclos sexuales femeninos de mamíferos y del papel que juegan las hormonas sexuales puede ser atribuida a la Citología Exfoliativa. El alcance y el significado de las secreciones vaginales fueron ampliamente considerados en función de su aplicación en los humanos. El estudio de las formas celulares normales características de las fases del ciclo sexual se amplió posteriormente para incluir los varios tipos aberrantes que se encuentran en condiciones patológicas especialmente en el cáncer.

Las características citológicas de las células del cáncer son frecuentemente impresionantes, captando la atención inmediatamente por su contraste con las formas de las células no malignas. Este hecho, además del interés que siempre ha despertado el estudio del cáncer, produjo marcada tendencia en investigar las posibilidades de aplicar el método citológico en el diagnóstico de lesiones malignas. Durante los últimos años su uso ha sido extendido del estudio de las secreciones uterinas y vaginales a muchos otros fluidos del cuerpo como la orina, secreciones prostáticas, semen, esputo, aspiraciones y drenajes bronquiales, gástricos, duodenales, rectales y del colon, exudaciones plurales, peritoneales y pericondreales, secreciones de las mamas y fluidos aspirados de otras cavidades del cuerpo y crecimiento císticos. Hasta la fecha el método citológico desde el punto de vista de veracidad del diagnóstico ha sido aplicado con más éxito en el cáncer del útero, pulmón, vejiga, recto, estómago, pleura, peritoneo y cavidad oral. El conocimiento de la Citología Exfoliativa de otros órganos ha progresado menos principalmente por la dificultad técnica para conseguir el material adecuado. Se reconoce que una de las características sobresalientes del enfoque citológico es la posibilidad que ofrece para el reconocimiento del cáncer incipiente. Esto ha sido demostrado por gran número de carcinomas primarios del cérvix detectados en años recientes con el uso de este examen en diferentes laboratorios. De allí que haya nacido un nuevo interés por el estudio de los cambios citológicos e histológicos de la carcinogénesis temprana.

El conocimiento de la citología del cáncer pri-

mario es todavía fragmentario. Durante la última década se logró gran progreso del cáncer. Esto se comprueba por el creciente uso del método para cubrir un mayor número de órganos y por su creciente utilización en los laboratorios de diagnóstico. (1)

A pesar de la gran cantidad de investigadores que ha habido en esta área se considera a George Papanicolaou como el Padre de la Citología Exfoliativa por investigaciones hechas por él, junto con Traut, de la endocrinología femenina a través de células exfoliadas, los que publicó en una monografía (1943) y que sirven, actualmente como fundamento para un diagnóstico efectivo del cáncer uterino. También publicó un método para la tinción de las células exfoliadas el cual es el más usado por distintos laboratorios y fue el que se empleó en la presente investigación con ligeras variantes. Papanicolaou, tomando como base los caracteres morfológicos y tintoriales de los exudados extendidos, los subdividió en 5 clases para clasificar los resultados. Esta clasificación la resume más adelante, que dicho sea de paso, se utilizó en este trabajo con unas pequeñas modificaciones.

Este sinnúmero de investigaciones sobre el valor de la Citología Exfoliativa en el diagnóstico del cáncer y los resultados halagadores que se obtuvieron hizo que se aplicara en la cavidad oral. La aplicación de este método a la cavidad oral en sí es relativamente nuevo y de progreso lento; pero desde 1958 la Citología Oral, su aplicación clínica e investigación ha acelerado rápidamente. Antes de ese año el progreso era lento. Ziskin y Caleb en 1941 describen las características de las secreciones epiteliales de la mucosa oral. Existen unos pocos reportes en los años 1940 y 1950 que no son de gran trascendencia. En años recientes se encuentran reportes de importante significado como los de Silverman, Uniker, Tiecke y Sanders. (2) Durante los últimos 4 años ha habido una copiosa actividad de los investigadores debido a la mayor existencia de material de trabajo e información obtenida, gracias a la cooperación de la Administración de Veteranos de U. S. A., en sus estudios a través de 13 hospitales. Esta investigación junto con muchos artículos recientemente publicados, ha despertado en muchos Odontólogos interés por esta técnica, lo que le ha dado mayores impulsos. (3) Hoy en día la Citología Oral es considerada como un examen de importancia para los Odontólogos. El procedimiento es empleado como adjunto y no como sustitutivo de la biopsia.

## B) *IMPORTANCIA DEL EXAMEN DE LABORATORIO*

La tendencia actual para la utilización cada vez más frecuente de los procedimientos de laboratorios clínicos y patológicos, en las ciencias médicas, continúa en una proporción acelerada. La profesión dental, desde hace tiempo, ha reconocido y utilizado algunos de estos procedimientos, especialmente la biopsia. Sin embargo otros procedimientos de laboratorio han sido descuidados en cierto grado, debido a que los Odontólogos están relativamente, poco familiarizados con los mismos. Esta falta de familiarización ha conducido también a que el Cirujano Dental ordene exámenes innecesarios; o que deje de ordenar exámenes que hubieran podido resultar de gran valor para evaluar alguna condición. No es nuestro deseo que se entienda, por lo antes dicho, que el Odontólogo debe ordenar toda clase de exámenes a diestra y siniestra; debe el profesional tener sus limitaciones a aquellos que él crea servirán para una valoración correcta del caso a tratar.

Los exámenes de laboratorio que más frecuentemente necesita el Odontólogo se pueden clasificar en 8 grupos:

- 1) Biopsia.
- 2) Citología Oral.
- 3) Cultivos de secreciones bacterianas.
- 4) Prueba de actividad de caries (Recuento de Lactobacilos).
- 5) Hemograma completo.
- 6) Análisis de orina.
- 7) Prueba de glucosa en sangre.
- 8) Química sanguínea y coagulación.

Los primeros cuatro exámenes son todos iniciados por el Odontólogo en su oficina; él obtiene el material para ser examinado. Las últimas cuatro pruebas son hechas generalmente en laboratorios designados específicamente para este propósito; el paciente se presenta directamente al laboratorio donde un técnico obtiene el material para ser evaluado. Debe tener el Odontólogo un conocimiento exacto de estos exámenes y saber sobre todo en que circunstancias emplearlos para poder llegar a un diagnóstico correcto y subsecuentemente a un buen tratamiento.

## C) *INDICACIONES Y USOS DE LA CITOLOGIA ORAL*

Como se dijo anteriormente, el Odontólogo debe saber qué exámenes necesita practicar en determinados casos. Específicamente el examen que nos interesa en el presente trabajo, la Citología Oral, tiene sus indicaciones y usos ya establecidos. Estos son los siguientes:

- 1—Para el diagnóstico de áreas sospechosas en aquellos pacientes quienes por una u otra razón no son referidos para biopsia.
- 2—Las lesiones dudosas que no son suficientemente significativas para indicar biopsia. (Lesiones pequeñas, úlceras, hiperplasias por prótesis, hiperqueratosis. etc.)
- 3—En pacientes que son un riesgo para la cirugía por perturbaciones cardiovasculares u otras razones de importancia.
- 4—En pacientes ancianos.
- 5—Para observar lesiones con facilidad cuando los cambios en los tejidos persisten, desde el punto de vista clínico, después de una biopsia negativa.
- 6—Para controlar aquellos pacientes cuyas lesiones malignas han sido tratadas con radiación o por medio de cirugía.
- 7—Para calmar a pacientes extremadamente aprensivos, en relación a lesiones benignas, sin necesidad de someterlos a biopsia.

Se quiere dejar claro que la Citología no es sustituto de la Biopsia más bien se complementan. Se practica el examen Citológico cuando no se hace la biopsia por las razones apuntadas anteriormente pero en caso que el resultado fuese positivo se practicará biopsia para confirmarlo. Cuando se puedan practicar los dos exámenes se recomienda tomar biopsia preferentemente.

#### D) *TECNICAS Y METODOS PARA EL EXAMEN DE CITOLOGIA ORAL*

Muchos procedimientos clínicos y de laboratorio frecuentemente son complicados, pero más tarde, a medida que el método va siendo utilizado en la práctica, el procedimiento se simplifica. En los tiempos primitivos de la Citología tenían que efectuarse muchos pasos complicados y rígidos. Sin embargo la técnica que vamos a describir sin omitir los pasos importantes. Se admite que para los efectos de investigación esta técnica abreviada talvez no sería suficientemente crítica, pero para el clínico y para el patólogo, la técnica si es práctica y satisfactoria.

Los materiales e instrumentos que ordinariamente se usan en la clínica dental son los que se

emplean en la técnica simplificada según R. W. Tiecke, que se presenta a continuación.

- 1) Los instrumentos para recoger el material deben de tener un ángulo de 90° o una cuchilla recta. La espátula que se usa para mezclar el cemento de coronas y puentes o el escarbador de cera son ideales. También puede emplearse un baja lengua partido longitudinalmente; se aconseja humedecerlo para evitar el daño de deshidratación de la célula. El isopo también se recomienda para casos especiales por Tiecke y Silverman.
- 2) El raspado de la lesión debe efectuarse estirando el tejido o compactándolo. Es preferible hacerlo de un solo movimiento en vez de varios pequeños. El exceso de saliva debe de ser eliminado mediante el chorro de aire antes de retirar las células.
- 3) El frotis debe de efectuarse en una laminilla de vidrio de 1 x 3 pulgadas en uno de cuyos extremos debe colocarse una etiqueta. La laminilla debe estar limpia y seca.
- 4) La fijación debe ser inmediata. Los frotis secados por aire son inconsistentes en sus propiedades colorantes. Una fijación segura y adecuada se obtiene con alcohol isopropílico al 95%. A diferencia de las soluciones de alcohol, éter etílico, no ofrece peligro de combustión además de que es fácilmente obtenible, barato, transportable y fácil de almacenarse. Las células, deben de fijarse, al menos, durante 1 hora antes de la coloración. Si las placas van a enviarse para su examen a un lugar distante, el fijador puede eliminarse después de la fijación y se debe sellar rápidamente al recipiente en que se mandarán para evitar la deshidratación de ellas. Un Patólogo competente que conozca los tejidos orales y sus condiciones, debe examinar y evaluar las placas.
- 5) Debe proporcionársele al Patólogo que examinará las muestras, la historia del paciente tal como la biopsia. También se le hará saber de las razones que se tuvieron para emplear un examen Citológico en vez de una biopsia. (2).

Existen otros autores e investigadores que adoptan otras técnicas que son similares con ligeras variantes. Para la detección de la cavidad oral completa se recomienda que el paciente se enjuaga

gue duro, con agua, agitando el líquido con la lengua y expectorando luego. Esta solución es centrifugada o si no su contenido celular es concentrado en un filtro de alta porosidad. Estas muestras tienden a ser bastante superficiales y la fuente primaria de células atípicas o malignas, si acaso son descubiertas, es enigmática, debido a la ausencia de regiones clínicamente obvias. La técnica por consiguiente es limitada cuando se trata de la investigación de un gran número de personas. En cambio el raspado mecánico es considerado como un procedimiento de detección porque determina el tejido de que se trata. Por consiguiente el raspado mecánico para el Examen Citológico Oral ha sido limitado a normalidades visibles.

Cuando se encuentra una lesión oral se debe obtener una historia y debe anotarse con precisión la descripción clínica. El conjunto de esa información, ayuda al clínico a llegar a un diagnóstico. Dicha información también puede ser de vital importancia al Citopatólogo en la evaluación de las células atípicas. A estas alturas debemos hacer énfasis en que si la lesión clínicamente sugiere cáncer es innecesario y no recomendable confiar en el espécimen Citológico para un diagnóstico preliminar. Aunque se recomienda obtener un frotis Citológico para propósitos de correlación, la biopsia debe de efectuarse lo más pronto posible para llegar a un diagnóstico definitivo que sirva de base para el tratamiento. Esta no es sino otra manera de expresar que un examen Citológico no puede sustituir a una biopsia.

Existe otro método para obtención de la muestra Citopatológica, de J. R. Swancar, que viene siendo similar al expuesto anteriormente por Tiecke, y en el cual los materiales que se necesitan son simples y consisten en dos láminas para cada lesión de la cual vaya hacerse el frotis, un instrumento plástico, de metal o de madera para raspar la lesión, un fijador, un formulario clínico de reporte o un formulario de historia de determinado tipo y un lápiz de grafito. La identificación del paciente debe de incluirse en la parte derecha de las placas, la manera de hacer ésto queda a discreción del clínico. La fecha es de suma importancia. Si la lesión está sucia debe de limpiarse mediante irrigación suave o mediante una gasa. Facilitará el raspado también si se humedece la lesión. Esta afirmación puede parecer contradictoria, tratándose de humedecer la cavidad oral, pero un procedimiento de examen detenido tiende a secar gran superficie, especialmente los labios, mejillas y el paladar anterior. Estas regiones deben

ser remojadas antes de proceder al raspado, el mismo paciente puede fácilmente hacerlo cerrando la boca y pasándole la lengua encima del área que va a ser raspada. Aunque se han ensayado muchos tipos de instrumentos para raspado, probablemente el más eficiente y conveniente que puede encontrarse es el baja lengua. El dispensario del Odontólogo incluye muchos instrumentos de metal y plástico que han sido usados para el raspado de lesión. Estos instrumentos pueden ser eficientes para esa labor pero es difícil recoger la muestra en el medio oral porque la mucosa tiende a hacer que el material se deslice del instrumento antes de que llegue a la placa. Cualquiera que sea el instrumento que se use debe de rasparse la lesión rigurosamente a menos que sea hemorrágicamente o ulcerada, en cuyos casos no será necesario para obtener la muestra deseada.

Los dos pasos que siguen, después de obtener la muestra, o sean el hacer el frotis en la lámina y la fijación, son considerados como uno solo. Es importante que los materiales sean dispuestos de manera que ayuden a una fijación inmediata para una mejor preservación de los detalles nucleares. Frost concede gran importancia a la fijación inmediata del material celular y a su preservación entre el momento de su obtención y el momento en que se hace el frotis. El sugiere que se coloque la placa encima del recipiente abierto que contiene el fijador antes de hacer el frotis de la muestra. Después de hacer el frotis con uno o dos rápidos movimientos se deja caer la placa dentro del frasco para obtener una fijación inmediata.

Se han empleado varios agentes fijadores. El más común consiste en alcohol etílico al 95%. Una mezcla de éter y 95% de alcohol etílico se emplea también con frecuencia.

Las placas deben permanecer en el fijador durante 30 minutos, el tiempo exacto no es crítico y a veces se han dejado las placas en el fijador hasta por 2 semanas sin que se vean efectos adversos. Debe tenerse cuidado al fijar las dos placas que no se pongan en contacto una con otra, ésto se logra con solo colocar las placas reverso con reverso, o si se prefiere colocando una faja de papel encima de una de las placas para separar las dos superficies. Al sacar las placas hay que dejar que se sequen; pueden envolverse en un material adecuado y enviarse, junto con la historia clínica, al laboratorio Citológico. (3). Hecho lo anterior, en el laboratorio el Citólogo procederá a la coloración de las muestras. La técnica de coloración más usa-

da es la de Papanicolaou, en ella están incluidas tres colorantes especiales:

1) **Hematoxilina de Harris con la composición siguiente:**

Hematoxilina	1 gr.
Alcohol Etílico de 95%	10 c. c.
Alumbrado Potásico o Amoniacal	20 gr.
H2O destilada	200 c. c.
Oxido Amarillo Mercurial	0.5 gr.

2) **O G 6, compuesto de la siguiente manera:**

Orange (solución al 0.5% en alcohol 95o)	400 c. c.
Acido Fosfotúngstico	0.06 gr.

3) **E A 36, con la composición siguiente:**

Verde brillante S F (solución al 0.5% en alcohol de 95o)	45 c. c.
Negro de Bismark (solución al 0.5% alcohol de 95o)	10 c. c.
Eosina Amarilla (solución al 0.5% en alcohol de 95o)	45 c. c.
Acido Fosfotúngstico (solución saturada)	0.2 gr.
Carbonato de Litio (solución saturada)	1 gr.

La manera como llevar a cabo la tinción con esta técnica es sumergiendo la placa en las distintas soluciones. El método está esquematizado en el siguiente cuadro:

Alcohol de 95°	Alcohol	Alcohol	Alcohol	H2O	
<u>Eter. Partes iguales</u>	<u>de 80°</u>	<u>de 70°</u>	<u>de 50°</u>	<u>destilada</u>	
15 Minutos	1 min.	1 min.	1 min.	lavar	
Hematoxilina	H2O	HCL	H2O	H2O	
<u>de Harris</u>	<u>destilada</u>	<u>0. 25% en H2O</u>	<u>corriente</u>	<u>destilada</u>	
5 Minutos	lavar	2-3 seg.	4-5 min.	lavar	
Alcohol	Alcohol	Alcohol	Alcohol	OG6	Alcohol
<u>de 50°</u>	<u>de 70°</u>	<u>de 80°</u>	<u>de 95°</u>	<u>                    </u>	<u>de 95°</u>
3-5 seg.	3-5 seg.	3-5 seg.	3-5 seg.	2 min.	lavar (6 veces)
Alcohol	EA 36	Alcohol	Alcohol	Alcohol	Alcohol
<u>de 95°</u>	<u>                    </u>	<u>de 95°</u>	<u>de 95°</u>	<u>de 95°</u>	<u>absoluto</u>
lavar	2 min.	lavar	lavar	lavar	deshidratar
Alcohol	Xilol				
<u>absoluto</u>	<u>                    </u>				
deshidratar	Clarificar				

Una vez se haya llevado a cabo lo anteriormente descrito, la lámina estará lista para que el Citopatólogo la examine.

#### E) *CRITERIO DE MALIGNIDAD EN LA CITOLOGIA EXFOLIATIVA*

Los criterios de malignidad en la Citología Exfoliativa tal como los de la Histopatología, se basan en cambios de estructuras de la célula individual así como en las alteraciones que experimentan sus interrelaciones. En las secreciones se puede ver el patrón del tejido mediante las agrupaciones celulares o por pequeños fragmentos de tejido que se encuentran mezclados con células individuales.

En la Citología Exfoliativa el interés se concentra principalmente en las características morfológicas de las células individuales, en tanto que en el diagnóstico de tejidos la atención se desvía, en gran parte, hacia los cambios de la estructura.

Por consiguiente cada método puede considerarse como suplementario del otro.

La célula in Situ muestra su tipo distinto y sus relaciones con el medio, asemejándose a un ladrillo de una pared contemplado lateralmente, en tanto que una célula completamente desprendida puede ser contemplada en su totalidad proporcionando un panorama completo de su estructura. Las células exfoliadas difieren en su aspecto de las correspondientes en las secciones de tejido. Por consiguiente hay plena justificación para diferenciar el criterio Citológico de malignidad cuando se aplica a células exfoliadas y a células en tejidos, a pesar de que en ambos casos se trata de diversos aspectos de un mismo tipo de célula. En la Citología Exfoliativa el reconocimiento de malignidad se basa en un criterio general que puede ser aplicado a una gran variedad de células. De acuerdo con el criterio general de malignidad pueden reconocerse como tal; pero sólo es mediante el criterio específico que puede determinarse su tipo distintivo. En esta etapa casi primitiva del uso del método citológico para diagnosticar el cáncer, tenemos que confiar principalmente del criterio general, puesto que el número de formas específicas de células que han sido definitivamente relacionadas con presencia de un tipo particular de malignidad es limitado.

La identificación precisa de células exfoliadas respecto de su tipo y origen se complica por la enorme variedad, tanto en forma como en tipo,

de células normales y anormales, por la presencia de formas intermedias y por su completa independencia con respecto a su ubicación primitiva. Solamente una larga experiencia, constancia y sistematización en el estudio permiten un conocimiento íntimo de mayor número de tipos de células específicas.

#### F) *DELINEACION DEL CRITERIO GENERAL DE MALIGNIDAD*

El Criterio General de Malignidad se subdivide en: 1—Criterio basado en modificaciones estructurales de las células y de sus núcleos; 2—Criterio basado en cambios de la interrelación de la célula comprobados en las aglomeraciones de células y fragmentos de tejidos; 3—Criterio indirecto.

- 1) Modificaciones estructurales de las células y sus núcleos.
- a) Cambios en el Núcleo: 1) el agrandamiento desproporcionado de los núcleos que altera apreciablemente la proporción normal núcleo-citoplasma (agrandamiento del núcleo más allá de los límites normales frecuentemente alterando la relación núcleo-citoplasma.
- 2) Aumento del contenido cromático que causa hiper cromasia. Es una coloración oscura del núcleo de las células malignas siendo el resultado de una densificación (picnosis) debida a un cambio degenerativo. Podría ser también que una coloración exagerada diera impresión de hiper cromasia llevando a la falsa evaluación de células no malignas.
- 3) Anormalidades estructurales del núcleo tales como presentación cromática aberrante, elongación e irregularidades en su periferia, indentaciones pronunciadas, lobulación y abultamiento.
- 4) Nucléolos o aumento en número más allá de una variación normal.
- 5) Multinucleaciones cuando va acompañado de atipia nuclear. Las multinucleaciones pueden ser el resultado tanto de una división nuclear mitótica como amitótica sin citoquinesis, o de una fusión de las células que no alcanzó a unir los núcleos.
- 6) Actividad mitótica con figuras anormales.
- 7) Engrosamiento notable de la membrana nuclear. El engrosamiento por sí solo no debe

ser tomado como criterio de malignidad puesto que puede observarse en infecciones crónicas y otras afecciones patológicas no malignas.

8) Cambios degenerativos tal como la vacuación anormal, disminución o completa reabsorción del núcleo. La vacuación y la disminución del núcleo pueden ser causados por la irradiación o deshidratación.

b) Cambios citoplasmáticos: 1) Cambios que se reflejan en la reacción calorante. Estos cambios pueden obtenerse mediante técnicas especiales. En los procedimientos de coloración se usan en el laboratorio, ciertos tipos de células muestran una basofilia o una acidofilia pronunciada. La acidofilia es de especial valor en el diagnóstico de algunos carcinomas epidermoides, en los cuales la célula maligna puede destacarse por su notable orangofilia.

2) Inclusiones citoplasmáticas tales como gránulos pigmentados, fragmentos de leucocitos o de células. Los gránulos de melanina son constitutivos característicos de células provenientes de melanomas. Las inclusiones leucocíticas se encuentran frecuentemente en adenocarcinomas especialmente, los del endometrio, aunque pueden verse en otros tipos de malignidad. Hay que ser cautelosos en la evaluación de células que presentan inclusiones leucocíticas puesto que tales células pueden encontrarse en condiciones no malignas como en infecciones, o raramente en hiperplasia y metaplasia. No es raro la ingestión de gránulos, leucocitos y fragmentos de células por histiocitos en el líquido de la pleura, en casos de enfermedad de Hodgkin's.

3) Vacuación atípica. La vacuación acentuada del citoplasma se encuentra frecuentemente en células de adenocarcinomas aunque también ocurre en otras formas de carcinomas. Los histiocitos contienen vacuolas de diversos tamaños: cuando se ingieren sustancias lípidas las vacuolas se vuelven prominentes y adoptan apariencia característica.

c) Cambios celulares en su totalidad: 1) Aumento de las células sobre su tamaño normal.

2) Aberraciones en la forma de la célula. Frecuentemente se ven células que muestran un elongamiento exagerado y con formaciones raras en carcinomas epidermoides. Las

células malignas que se alargan extremadamente y que son de origen epitelial pueden parecerse grandemente a los fibrocitos.

Se les llama, frecuentemente, células en fibra. Este término, aunque resulta descriptivo, puede dar la impresión de que se trata de células de tejido fibroso de unión. Algunos las denominan células culebras. Las formas de células aberrantes o alargadas que tengan un núcleo normal no deben ser tomadas como malignas.

3) Cambios degenerativos o necróticos. La necrosis se observa en casos de neoplasia maligna y representan un valor de diagnóstico en ciertos tipos como el adenocarcinoma del útero. Tal como sucede con otros criterios la degeneración y la necrosis por sí solos no constituyen pruebas absolutas de malignidad. La degeneración celular marcada se observa también en secreciones de ciertos tumores benignos, tales como el papiloma o en condiciones inflamatorias crónicas y es particularmente conspicuo después de la irradiación.

2--Criterio basado en la interrelación de las células.

1) Irregularidad de la apariencia (o patrón). La irregularidad de su apariencia cuando se trata de colonias de células o fragmentos de tejido implica una falta de uniformidad en la orientación de las células y su núcleo.

2) Anisocariosis y Anisocitosis. Los términos anisocariosis y anisocitosis se refieren a variaciones notables en el tamaño de los núcleos y de las células de un mismo tipo dentro de una colonia de células y no a las variaciones que presentan células dispersas en una secreción. Este constituye uno de los criterios de malignidad más significativo.

3) Falta de delimitación distintiva de las células. La falta de delimitación distintiva dentro de un conglomerado de células puede considerarse como un efecto de la no diferenciación de las mismas, lo cual no es infrecuente en la malignidad. El punto significativo, en término de diagnóstico, es la ausencia de delimitación distintiva de la célula en colonias de un tipo en el cual, la célula individual normalmente presenta delimitaciones bien definidas. También debe tenerse en cuenta que una pre-



servación defectuosa de los ejemplares puede ocasionar el desaparecimiento de la demarcación de la célula.

- 4) Agrupamiento denso o amontonamiento de células y núcleos.  
El amontonamiento es un criterio significativo de malignidad y puede ser evaluado mejor en aglomeraciones de células exfoliadas, en donde las mismas pueden ser preservadas en su totalidad, que en secciones de tejidos o de sedimentos centrifugados.
- 5) Envolvimiento de una célula por otra. En muchos casos este proceso da la impresión de fagocitosis; en otros parece como que fuera el resultado de la presión que sufre la célula por causa del amontonamiento.
- 6) El agrupamiento de células en patrones característicos.
- 7) Estratificación pronunciada. La estratificación de agrupaciones de células tiene más valor como criterios de malignidad cuando va asociado con hiperchromasia u otra anormalidad del núcleo.

### 3—Criterio Indirecto.

- 1) Presencia de sangre. La presencia de sangre fresca y la hemorragia profusa no sugieren malignidad tanto como sangre fibrinada vieja con eritrocitos degenerados, tal como se observan en el adenocarcinoma del endometrio; en las primeras etapas de la malignidad casi no hay hemorragia.
- 2) Exceso de linfocitos. Los linfocitos sugieren, especialmente, malignidad cuando se encuentran conglomerados en el esputo y lavados bronquiales, y en menor grado en otros fluidos como la exudación. En casos de leucemia linfocítica se han observado numerosos linfocitos en varios fluidos del cuerpo tal como esputos, lavados bronquiales, orina y exudaciones. Los linfocitos raramente son prominentes en secreciones normales y aún en casos de infección no llegan a ser numerosos como en las secciones de tejidos. Las células del plasma se ven especialmente en casos de inflamación crónica pero pocas veces se ven prominentes en las secreciones.
- 3) Prominencias de Histiocitos. Los histiocitos pueden encontrarse en grandes cantidades en ciertas condiciones malignas. En algunos casos presentan una alta prueba de

fagocitosis y de actividad proliferante, presentándose en formas gigantes multinucleadas. Los histiocitos pueden encontrarse en grandes cantidades en secreciones normales y por eso no deben ser considerados como acusadores de malignidad inmediata. Comúnmente se encuentran en fluidos retenidos, tales como exudaciones y en las inflamaciones crónicas o en otras condiciones en las cuales hay fragmentos celulares o sustancias extrañas que tienen que ser eliminadas. Los histiocitos a veces muestran configuraciones atípicas como la hiperchromasia, alargamiento nuclear y vacuolación al punto que pueden llegar a ser mal interpretadas como células malignas.

- 4) Leococitos polimorfonucleares. Los leococitos polimorfonucleares son característicos de infección. En la malignidad son numerosos principalmente en estados avanzados en los cuales las infecciones secundarias son comunes.

### C) *CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE EL CRITERIO DE MALIGNIDAD*

Tomando en cuenta el criterio anteriormente expuesto, es aparente que un solo criterio es insuficiente para establecer conclusiones de la presencia de malignidad. Aumento desproporcionado del núcleo, hiperchromasia, núcleos múltiples, mitosis anormales vacuolas, anisocitosis y anisocariosis, estratificación, etc., son aberraciones morfológicas que pueden observarse en células normales aparentes: la evidencia suficiente para un diagnóstico positivo está dado sólo al llenar un número de criterios. Un conocimiento amplio de células normales exfoliadas y de su variabilidad, es de suprema importancia no sólo como la base lógica para un entendimiento de lo anormal, sino también como un prerequisite de una adecuada evaluación del diagnóstico. Hay momentos en los cuales la consideración de el criterio de normalidad y un conocimiento del alcance de la variabilidad normal son esenciales para la interpretación apropiada de los resultados Citológicos. A pesar de la atipia estructural (por atipia se entiende: aberraciones estructurales de lo normal pero no hay malignidad) la naturaleza de la célula no maligna puede ser reconocida por el factor de que ella mantiene el tipo tradicional, y el núcleo, a pesar de estar agrandado, demuestra un patrón de cromatina normal. Siempre se debe tomar en cuenta, para un buen diagnóstico, la variabilidad que en lo normal existe en el tamaño de las células exfoliadas y de su núcleo, dentro de un tipo

dato de células. Como se mencionó anteriormente extremas variaciones pueden ser observadas en ciertos tipos de células de la mucosa oral. Pero también, el patrón nuclear normal de estas células permite el reconocimiento de un carácter benigno no importando la variación en tamaño.

#### H) FUENTES DE ERROR EN EL ESTUDIO CITOLÓGICO

Además de los errores en la interpretación de los frotis, hay otros que pueden resultar de una evaluación incorrecta de los estudios Citológicos. De éstos los siguientes pueden ser enumerados:

- 1) Mala rotulación o intercambio de muestras ya sea en la colección o en el laboratorio.
- 2) Deterioración de muestras debido a un proceso retardo o a una fijación pobre.
- 3) Secado de los frotis, particularmente antes de la fijación. Esto puede causar distorsión y agrandamiento de las células y de sus núcleos perdiendo así detalles estructurales.
- 4) Coloración inapropiada. Una sobrecoloración con hamatoxilina u otros colorantes pueden dar al núcleo y aún a toda la célula, una apariencia hipercromática. Esta es otra causa frecuente de una falsa interpretación positiva. Muy poca coloración, da una definición pobre de la estructura de la célula y no permite la evaluación apropiada del contenido de cromatina en el núcleo.
- 5) Marca errónea o incompleta del tipo de muestra presente. Esto puede resultar en una mala interpretación del origen o tipo de ciertas células.
- 6) Contaminación. Esto puede ocurrir al momento o antes de la colección de la muestra, pudiendo dar un diagnóstico erróneo. La contaminación puede ocurrir también durante la coloración. Cuando se procesan varias láminas juntas, células o racimos de ellas pueden separarse de un frotis y adherirse en la superficie de otra lámina; por lo tanto es recomendable el uso de recipientes separados para su coloración.
- 7) Falta de una historia adecuada. Los procesos quirúrgicos practicados en las lesiones, así como irradiaciones, pueden causar cambios Citológicos muy marcados, los cuales, en ausencia de información adecuada, pueden

conducir a la interpretación equivocada del frotis.

Las posibilidades antes mencionadas de errores deben tomarse siempre en consideración para la evaluación final de lo que se encuentra en el frotis.

#### I) CLASIFICACION DE LOS RESULTADOS CITOLÓGICOS

Los frotis no siempre se pueden juzgar como positivos o negativos. Hay casos en los cuales los resultados Citológicos son inconclusos. Una clasificación, tomando en cuenta la cantidad de frotis dudosos, es necesaria. En algunos laboratorios los resultados son reportados como positivos, sospechosos o negativos. Pero una subdivisión de la anterior es deseada para resolver ciertos problemas que se presentan. El Citólogo puede experimentar gran dificultad en clasificar células que difieren del tipo normal pero que no muestran características malignas. Células con tales atipias, como algunas veces son vistas en condiciones inflamatorias o en células exfoliadas de un papiloma u otros tumores benignos, pertenecen a esta categoría. Su estructura es esencialmente negativa de malignidad, pero ellas no pueden ser propiamente incluidas en el grupo células normales. Una clase intermedia entre la célula normal y la sospechosa es necesaria. Una subdivisión similar existe en el grupo positivo. Hay situaciones en las cuales, los resultados de carácter positivo no dejan ninguna duda en su interpretación final. Por otro lado, hay casos en los cuales existen grandes pruebas pero no una evidencia convincente de malignidad; reportar tales casos como definitivamente positivos no será justificado en vista de que un reporte de frotis positivo es frecuentemente el factor determinante para emplear cirugía mayor. Por lo tanto es esencial distinguir entre los resultados de un carácter concluyentemente definitivo y aquellos que llevan consigo un elemento de duda.

Estas consideraciones han llevado a aceptar a muchos Citólogos el siguiente sistema de clasificación para los resultados Citológicos que consisten en 5 grupos:

Clase I: Ausencia de células atípicas o anormales (negativa).

Clase II: Presencia de células anormales debidas, en general, a procesos inflamatorios que carecen de carácter maligno. (Exudado negativo que requiere ulteriores controles en tiempos sucesivos).

Clase III: Presencia de células con carácter muy sospechoso que, sin embargo, no autorizan a un diagnóstico de neoplasia. (Exudado fuertemente sospechoso, que sugiere inmediata exploración por biopsia).

Clase IV: Presencia de células fuertemente sugestivas de malignidad. Exudado positivo).

Clase V: Presencia de numerosas células decididamente neoplásicas. (Intensamente positivo).

Debe enfatizarse que la Clase V es el único grupo concluyente y exacto de malignidad en un 100% de los casos. Un reporte de esta clase no puede hacernos dudar que nos encontramos ante una lesión maligna. (1).

#### J) EFECTOS DE LA RADIACION EN CITOLOGIA ORAL

Es de suma importancia, para el Citólogo, conocer los cambios que puedan ocurrir en las células expuestas a radiaciones para no cometer errores de diagnósticos. Estos cambios iniciales del patrón citológico pueden ser detectados dentro de algunas horas después del comienzo del tratamiento de radiaciones. Células no malignas, superficiales e intermedias, puede estar moderadamente agrandadas y tener una pequeña forma irregular, a pesar que la línea de afuera de la célula aparece sin cambios. El agrandamiento de la célula en masa es raro. Las células que no han sido irradiadas muestra pocos gránulos citoplasmáticos. Las células normales irradiadas muestran un aumento en el número y tamaño de los gránulos citoplasmáticos.

Las células normales irradiadas muestran un aumento en el número y tamaño de los gránulos citoplasmáticos. Estos cambios tempranos son seguidos, en unos pocos días, por la aparición de vacuolas en el citoplasma y en núcleo. Vacuolización de las células epiteliales también se encuentran en los estados inflamatorios. El citoplasma también muestra una red de fibrillas irregulares; la membrana nuclear puede ser irregular, mostrando vacuolas perinucleares entre el núcleo y el citoplasma. Células multinucleadas y un núcleo polimórfico pueden ser encontrados, pero esto no es una característica dominante. Células de la mucosa, que usualmente son redondas, tienden a ser elongadas, y aún con forma de renacuajo, pero esto es excepcional. La coloración de Papanicolaou de las células epiteliales no queratinizadas de las capas profundas frecuentemente demuestran un color intensamente anaranjado o castaño.

El tratamiento por radiaciones de un carcinoma epidermoide de la mucosa oral produce una marcada reducción, durante los primeros 12 días, en el número de células malignas en el frotis. A medida que el tumor se vuelve necrótico, células características de la inflamación aguda y restos celulares se ven en el frotis. Las células malignas irradiadas muestran un marcado aumento nuclear y una irregularidad en su borde. El núcleo aumenta en tamaño y número. La posible aparición de células gigantes en frotis de tumores cuyo tratamiento fue tardío no debe tomarse como un signo de un tratamiento inefectivo. Estas células gigantes son consideradas más resistentes a la radiación. La aparición de ellas no es un signo de un pronóstico pobre, debido a que no son capaces de causar recurrencia del tumor. Los estudios citológicos orales son útiles para diferenciar las lesiones posradiación de las posibles recurrencias del tumor tratado. (2).

### CAPITULO III

#### INVESTIGACION SOBRE CITOLOGIA ORAL

Se han llevado a cabo varias investigaciones sobre Citología Oral para determinar su valor en el diagnóstico de lesiones malignas. El Dr. Written J. B. ha hecho estudios de materiales aspirados de quistes o de lesiones quistiformes de los maxilares antes de practicar exploración quirúrgica.

Los métodos y materiales que empleó son sencillos. El material aspirado se fijó con alcohol etílico (o metílico), luego se centrifugó y el sedimento (elementos celulares) se puso en laminitas. Estas se sometieron a un procedimiento que es una versión modificada del método de coloración de Papanicolaou. Las lesiones examinadas fueron: 1) Quiste Peridontal Apical (6 casos); 2) Quiste Dentígero (2 casos); 3) Quiste de Desarrollo (2 casos); 4) Quiste Traumático (3 casos); 5) Quiste Dermoide (1 caso); 6) Quiste de Retención (1 caso); 7) Defecto focal osteoporótico de la médula del hueso (1 caso); 8) Ameloblastoma (2 casos); 9) Carcinoma del seno (3 casos). Todos los quistes y las lesiones pseudoquísticas que fueron sometida al examen Citológico lo fueron también a la biopsia y el material se procesó de la manera corriente en los exámenes histopatológicos.

La mayoría de los especímenes Citológicos obtenidos de los quistes y lesiones pseudoquísticas de la mandíbula revelaron una configuración celular un tanto característica. En el quiste periodontal apical, sin estar al tanto de la historia, los investigadores sospecharon que las células representaban una afección maligna. Esto es debido al medio alterado de la célula epitelial, incluyendo inflamación, como consecuencia de la presión que tienen estos quistes. El quiste dentígero no pudo ser diferenciado del quiste de desarrollo ni del ameloblastoma. El quiste dermoide del piso de la boca no fue diagnosticado, asemejándose a los quistes sebaceos rotos de la piel. En el quiste traumático la existencia de un gran número de células de la sangre y las proteínas asociadas permitieron un diagnóstico definitivo. El quiste de retención no mostró ningún cambio patognomónico ni tipos de células que permitieron su diagnóstico. En el caso de la osteoporosis focal de la médula ósea, se hizo un diagnóstico específico. El material aspirado de los ameloblastomas no revelaron ninguna célula tumoral debido a la falta de descamación de la célula epitelial; puede que en el de tipo quístico se recuperen más células. En los 3 carcinomas del seno, se demostró que 2 te-

nían especímenes Citológicos positivos. El único falsamente negativo se examinó después de la biopsia y no mostró células neoplásticas. En un gran número de casos la técnica Citológica pudiera dar un porcentaje de precisión mayor, de manera que estos resultados deben ser interpretados como casos pilotos. En algunos casos se obtuvieron frotis patognomónicos por lo que parece que esta técnica, puede permitir un diagnóstico provisional en estos casos. (5).

En la mayoría de las investigaciones sobre la Citología Oral su veracidad oscila entre el 47% y el 90%. Referente a esto Rovin ha dicho que los frotis Falsos Negativos deben ser evaluados en relación al número de cánceres establecidos histológicamente más bien en relación con el número total de frotis que se han estudiado. (6). Por otro lado Cawson encontró frotis negativos en 4 casos de cáncer oral precoz, en los cuales la biopsia fue positiva (1) y Umiker (8) ha enfatizado la dificultad de obtener frotis positivos en casos de lesiones malignas o pre-malignas precoces, porque al raspar la mucosa las células superficiales son las removidas, pudiendo ocurrir los cambios marcados, como el carcinoma in situ, en el estrato germinativo y el espeso del epitelio escamoso estratificado oral. Rovin llevó a cabo una investigación en 372 casos de lesiones orales en las cuales, además de Citología hizo biopsia también. De 65 carcinomas establecidos histológicamente la Citología fue negativa en 17 casos; esto representa una incidencia de falsos negativos de 26.15%. Una de las investigaciones de mayores proporciones que se están llevando a cabo sobre Citología Oral es la realizada por Sklark, G. Meyer I, Cataldo E. y Taylor R. en la Universidad de Tufts en Boston Mass. Este estudio comprenderá una duración de 5 años. hasta el momento llevan 2 años y han dado a conocer los resultados obtenidos.

En este estudio se tomó biopsia y Citología de lesiones de la mucosa oral en las cuales el carcinoma estuviera clínicamente considerado en un diagnóstico diferencial, esto es, en todos los casos en que se tuvo una ligera sospecha de posibilidad de neoplasma maligno. Esto incluye lesiones queratínicas y lesiones ulcerativas con cicatrización retardada. Los pacientes fueron tomados de 2 hospitales de Boston. Los frotis se prepararon con sumo cuidado. Se ocupó para raspar las lesiones bajalenguas. El material fue puesto en 2 láminas que se fijó inmediatamente con alcohol éter (50/50) ó 70% de alcohol por 20 minutos. La tinción de los frotis se hizo por la técnica de Papanicolaou y los examinaron dos patólogos por separado con



gran experiencia en Citología. Después de tomados los frotis se obtuvo una biopsia de cada caso, se fijó con formalina 10%, seccionándola con parafina, se tiñó con eosina y hematoxilina. Se obtuvo la historia médica de cada caso. Se estudiaron 2.052 pacientes. La edad y el tipo de las lesiones estudiadas se encuentran en la tabla I y II. Como se esperaba, el número mayor de lesiones se encontró en el grupo de inflamaciones crónicas;

82 carcinomas aparecen en esta serie. En 12 casos de carcinomas los frotis resultaron negativos, representando un porcentaje de falsos negativos de 14.6%. Otros 3 casos fueron diagnosticados como bastante atípicos más que como sugestivos o sospechosos (Tabla III). Carcinomas con falsos negativos en hallazgos Citológicos que envuelven una variedad de lesiones en diferentes partes de la boca, se encuentran en la Tabla IV.

### TABLA I

DISTRIBUCION DE 2.052 PACIENTES CON LESIONES ORALES POR SEXO Y EDAD

HOMBRES	MUJERES		
Menores de 45 años	450	Menores de 45 años	548
45 a 54 años	190	45 a 54 años	302
55 a 64 años	156	55 a 64 años	143
65 ó más años	131	65 ó más años	132
	<hr/>		<hr/>
	927		1.125

### TABLA II

LESIONES Y NÚMERO DE CASOS

Inflamación crónica	956
Leucoplasia (Hiperqueratosis)	229
Leucoplasia (disqueratosis)	21
Ulceraciones	68
Hiperplasia epitelial e Inflamación crónica	102
Angiogramuloma (granuloma piógeno)	36
Reacción a cuerpo extraño	8
Fibroma	222
Papiloma	49
Papilofibroma	44
Hemangioma	21
Mucocele	47
Neurofibroma	5
Lipoma	7
Mioblastoma gránulo celular	1
Adenoma Pleomórfico	1
Abceso	3
Pénfigo de membrana mucosa	4
Eritema multiforme	3
Pénfigo Vulgaris	2
Liquen Plano	36
Carcinoma epidermoide	82
Adenocarcinoma	1
Tumor Mucoepidermoide	1
Linfosarcoma	3
Melanoma Maligno	1

### T A B L A III

#### HALLASGOS CITOLOGICOS EN 82 CARCINOMAS EPIDERMOIDES DE LA CAVIDAD ORAL

Citología Positiva	70
Atípica	3
Sospechosa	26
Sugestiva	41
Citología Negativa	12
% de Negativas Falsas	14.6%

### T A B L A IV

#### CARCINOMAS FALSOS NEGATIVOS

<u>PACIENTE</u>	<u>SEXO</u>	<u>EDAD</u>	<u>LOCALIZACION</u>
L.F.	F	69	Mucosa oral izquierda
H.K.	M	48	Paladar blando derecho
H.B.	M	36	Parte posterior derecha de la lengua.
R.M.	M	68	Area amigdalina derecha
F.I.	M	52	Area amigdalina derecha
P.M.	M	74	Mucosa bucal derecha
M.H.	M	75	Dorso posterior de la lengua
J.K.	M	64	Piso de la boca
F.E.	M	61	Región retromolar izquierda
L.C.	M	53	Paladar blando
A.G.	M	62	Parte izquierda de la lengua
L.M.	F	70	Labio inferior

En este punto de la investigación da un falso negativo de 14.6% en la detección del carcinoma. También se demuestra que la veracidad de la biopsia en el diagnóstico del cáncer fue de 100% comparado con el 85.4% de la Citología. Esto es un alto porcentaje comparado con lo encontrado por Rovin en un estudio donde la veracidad del diagnóstico Citológico fue de 73.85% en una serie de 65 casos de cáncer oral maligno.

Las cifras de muchos otros estudios Citológicos no son adecuadamente evaluadas, ya que la biopsia es obtenida en un pequeño número de ejemplares. En un reporte reciente se hace mención de 2.758 casos, con anomalías o lesiones de la mucosa oral, que fueron obtenidos de 118.000 pacientes examinados. En este caso sólo 592 biopsias fueron tomadas aunque 2.758 frotis fueron hechos. De las 592 biopsias 315 fueron malignas y sólo 7 frotis fueron falsos negativos, para una veracidad de 98%. En Tufts University School of Dental Medicine, en un período de 10 años, más de 2.000 carcinomas orales han sido estudiados y sólo 4 casos no fueron diagnosticados inicialmente por biopsia. En uno de los casos esto resultó por la inadecuada remoción de tejidos en el punto exacto de la lesión y de patrones histológicos poco concluyentes; en los otros 3 casos las lesiones fueron inicialmente interpretadas como hiperplasias papilares o papilomas más que carcinomas.

Las conclusiones a que se ha llegado en este estudio, que abarcará 5.000 casos, de los cuales al presente hay estudiados 2,052, son:

- 1) La veracidad de la Citología Oral, con propósitos de diagnóstico, es un poco más baja que la de la biopsia.
- 2) En 82 casos de carcinoma hubo una Citología falsamente negativa en 12 casos, para un porcentaje de 14.6%.
- 3) La biopsia, en todo instante, dio un diagnóstico definitivo e inmediato de la lesión con una veracidad de 100%, comparada con el 85.4% de la Citología.
- 4) En 21 casos de Leucoplasias con Displasias interpretadas como lesiones premalignas o precancerosas, los frotis fueron negativos. Esto no es para sorprenderse, desde que se conoce que las superficies queratínicas evitan la remoción de las células anormales de las capas profundas del epitelio. Sin embargo es preciso que se enfatice que sólo la biopsia puede ser usada en el diagnóstico de la forma pre-cancerosa de Leucoplasia.
- 5) Los hallazgos de Citología Falsos Positivos conciernen a los investigadores, ya que en la práctica normal una biopsia sería inmediatamente tomada.

Estos casos incluyen la interpretación de frotis atípicos o sospechosos y representa una variedad de lesiones, tal como hiperplasia por prótesis totales e inflamaciones crónicas. 18 casos positivos falsos fueron registrados. (9).



## CAPITULO IV

### PRESENTACION DE LOS DATOS ORIGINALES DE LA INVESTIGACION.

#### DISCUSION E INTERPRETACION DE LOS MISMOS

##### a) *Materiales y métodos empleados durante la investigación.*

La presente investigación se llevó a cabo con los pacientes que concurren diariamente al Servicio de Estomatología del Centro Médico Nacional. Se tomó Citología de todas aquellas lesiones orales que hacían sospechar, por su aspecto clínico, una neoplasia incipiente. En los casos que dió una respuesta positiva se confirmó mediante biopsia. La duración de la investigación fue de 10 meses y los casos vistos ascienden a 51 en total. El raspado de la lesión, para obtener la muestra, se llevó

Alcohol a 70° 1 minuto.  
Alcohol a 50° 1 minuto.  
Se lavan las láminas con agua del chorro.  
Hematoxilina de 3 a 5 minutos.  
Se lavan con agua 2 veces.  
Alcohol clorhídrico (a virar en rojo).  
Se lavan con agua.  
Carbonato de litio (a virar en azul).  
Se lavan con agua.  
Alcohol a 50° 1 minuto.  
Alcohol a 70° 1 minuto.  
Alcohol a 80° 1 minuto.  
Alcohol a 90° 1 minuto.  
O G 6 (colorante) de 3 a 5 minutos.  
Alcohol a 80° 1 minuto.  
Alcohol a 96° 1 minuto.  
EA 65 (colorante) de 3 a 5 minutos.  
Alcohol a 96° 1 minuto.  
Alcohol a 96° 1 minuto.  
Alcohol a 100° 1 minuto.  
Alcohol a 100° 1 minuto.  
Xilol (5 a 10 minutos).  
Xilol (5 a 10 minutos).  
Se monta con bálsamo del Canadá.

Una vez terminada la coloración de las muestras se procedió a su estudio microscópico llevado a cabo por un experto Citólogo al que se le suministran datos como edad, sexo del paciente, lugar de la lesión, diagnóstico clínico y en casos especiales una breve historia de la lesión.

Como se puede ver en la tabla anterior, la mayoría de los pacientes que presentaron lesiones orales fueron del sexo femenino y entre éstos la

a cabo con elevadores de Exodoncia previo secamiento del área con gasa. Las muestras se extendieron en laminillas limpiadas previamente con alcohol y de inmediato se fijaron con una solución especial de venta en el comercio con el nombre de Pop Spray. Algunas muestras se fijaron con calor proveniente de una llama y luego se mantuvieron en alcohol a 96° hasta su coloración. Este último método tiene el inconveniente de que es fácil quemar las células al aplicar mucho calor, siendo difícil determinar la cantidad y el tiempo necesario para que esto no suceda.

Para el proceso de la coloración y el estudio microscópico de las muestras se contó con la valiosa colaboración del Laboratorio de Citología del Departamento de Patología del Hospital Rosales.

Inmediatamente después de la fijación de las muestras se procedió a su coloración. Para esto se siguió el método de Papanicolaou ligeramente modificada de la manera siguiente:

proporción fue mayor en los menores de 45 años. De éste se puede deducir que no necesariamente la edad avanzada va asociada a las lesiones orales. Los carcinomas diagnosticados por Citología y confirmados por biopsia fueron en pacientes cuyas edades oscilaban entre 50 y 70 años, siendo solamente uno de ellas de 45 años. El número de Carcinomas diagnosticados fue de 7, tres de ellos pertenecían al sexo femenino y los otros 4 al mas-

culino. Por lo anterior se puede asociar los carcinomas con la edad avanzada de las personas, ya que su frecuencia es mayor en pacientes mayores de 50 años.

Para la interpretación de la Citología se usó

En la Tabla II se presentan las lesiones orales que clínicamente se encontraron y el número de cada una de ellas.

el siguiente criterio que consta de 7 tipos:

Negativo	I:	Epitelio normal
Negativo	II:	Procesos Inflamatorios
Negativo	III:	Metaplasia epidermoide, Hiperplasias; requiere control a corto plazo.
Inadecuado	:	Material muy escaso, en el cual no es posible hacer un estudio.
Sospechoso	III:	Alteraciones que presentan atípicas celulares, lesiones pre-cancerosa. Requiere biopsia Inmediata.
Positiva	IV:	Alteraciones celulares consistente con malignidad.
Positiva	V:	Alteraciones celulares malignas.

b) *Resultados obtenidos, Discusión e Interpretación de los mismos.*

**TABLA I**  
**DISTRIBUCION DE 51 PACIENTES CON LESIONES ORALES**  
**POR EDAD Y SEXO**

<u>HOMBRES</u>		<u>MUJERES</u>	
Menores de 50 años	3	Menores de 45 años	19
De 50 a 60 años	5	De 45 a 54 años	8
De más de 61 años	3	De 55 a 64 años	9
	<hr/>	Mayores de 65 años	4
Total	11	Total	<hr/> 40

El número de pacientes a los cuales se les practicó el examen Citológico, por presentar lesiones sugerentes de malignidad, fue de 51. La edad y el sexo de los pacientes se encuentra en la Tabla I.

En la Tabla II se presentaron las lesiones orales que clínicamente se encontraron y el número de cada una de ellas.

**T A B L A II**  
**LESIONES Y NUMERO DE CASOS**

Hiperqueratosis .....	4
Hiperplasia Papilar Inflamatoria .....	18

Queilitis Descamativa .....	1
Sarcoma .....	1
Úlcera Traumática .....	7
Osteomielitis .....	1
Carcinoma (Espinoceular) .....	7
Sospechosos de Carcinoma .....	3
Afta Recurrente .....	2
Gingivitis .....	2
Quistes .....	2
Gránulos de Fordyce .....	1
Moniliasis .....	1
Eritema Multiforme .....	1
<b>TOTAL .....</b>	<b>51</b>

Los 4 casos de Hiperqueratosis que se encontraron en la investigación dieron respuestas citológicas, 2 de ellos, de Negativo II y los otros 2 de Negativo III. Microscópicamente se encontraron células cornificadas y alteraciones de tipo inflamatorio; no se encontraron células de orden neoplásico.

La entidad patológica que en mayor número se presentó fue la Hiperplasia Papilar Inflamatoria, todas ellas producidas por prótesis completas mal confeccionadas. Las respuestas Citológicas dieron, de un total de 18 Hiperplasias, 11 casos Negativos II que presentaban al examen células basales de la capa profunda y alteraciones de tipo inflamatorio. Los restantes 7 casos fueron Negativos III con marcadas alteraciones de tipo inflamatorio y grupos de células con Metaplasia Epidermoide. Todos estos casos fueron tratados quirúrgicamente con excelentes resultados.

El único caso que se encontró de Queilitis Descamativa dió una interpretación Citológica de Negativo II que presentaba regular cantidad de células cornificadas que bien podrían corresponder a Hiperqueratosis del epitelio. A este paciente se le prescribió un tratamiento a base de Pomada de hidrocortisona; en el término de un mes la lesión desapareció. En el caso del Sarcoma ya éste había sido diagnosticado por biopsia y correspondía a una metástasis de un tumor de la rodilla con 2 meses de evolución. El tratamiento que se había empleado antes del examen Citológico, fue el quimioterápico y el de radiaciones de cobalto. La respuesta Citológica no fue contundente ya que se encontraron escasas células sospechosas de malignidad y discretos signos de radiación.

De los 7 pacientes con úlcera traumática uno de ellos dio una respuesta de Negativo I con células parabasales y discretas alteraciones de tipo inflamatorio no muy marcadas y los otros 3 restantes dieron Negativo III conteniendo, microscópicamente, grupos de células metaplásicas, disqueratosis y marcados signos de inflamación. Estas lesiones ulcerosas fueron producidas por prótesis completas, erupción dentaria y úlceras pos-extracción.

De los 7 Carcinomas encontrados en esta investigación, 5 tuvieron una interpretación Citológica de Positivo V por presentar marcadas atípias celulares correspondientes a malignidad.

Los otros 2 restantes dieron un resultado de Negativo II en dos exámenes Citológicos, presentando células de aspecto normal sin ninguna evi-

dencia de malignidad. De estos pacientes, dos murieron; a 2 se les había practicado tratamiento quirúrgico y los 3 restantes se encuentran recibiendo tratamiento por radiaciones de cobalto y quimioterápico. A los pacientes que ya se les había practicado cirugía para la eliminación del tumor, cuando se presentaron a control se les tomó el examen Citológico, el cual nos mostró que había recidiva del Carcinoma: uno en la lengua y otro en el piso de la boca; hubo necesidad de volver al tratamiento quirúrgico.

En 3 casos se encontraron cambios celulares sugestivos de malignidad pero no se pudo confirmar plenamente ni por biopsia ni por Citología que fueron Carcinomas. Dos de ellos resultaron Negativos III y uno Sospechoso III; en las muestras se identificaron grupos de células metaplásicas con algunas sospechas de malignidad. El paciente Sospechoso III murió a los 3 días de haberse hecho el examen Citológico, no se le practicó la autopsia por no haberse ordenado.

Se encuentran en nuestra investigación 2 casos de Aftas Recurrentes con interpretación Citológica de Negativo II por encontrarse alteraciones de tipo inflamatorio y células basales de las capas profundas. En los pacientes con Gingivitis se presentó un aspecto digno de hacerlo notar, uno de ellos dió un resultado Negativo II con abundantes células basales y ausencia de células superficiales, lo que hizo suponer la existencia de una erosión superficial en vías de regeneración o que el proceso inflamatorio impedía la maduración celular. Esta Gingivitis era producida por un punto alto en una corona fenestrada con duración de 4 años. El otro caso y el más interesante, se trataba de una paciente con Leucemia Granulocítica, diagnosticada por biopsia, que presentaba una Gingivitis generalizada de la cavidad oral; se practicó el examen Citológico y la interpretación nos dió un Negativo II con abundantes células de epitelio plano estratificado sin alteraciones neoplásicas, además de linfocitos y núcleos sin citoplasma. En los 2 quistes radiculares solamente se observaron abundante linfocitos y polimorfonucleares. El caso de los Gránulos de Fordyce presentó abundantes eritrocitos y células de la capa basal profunda dando un Negativo II. En el paciente con Moniliasis se encontraron éstas en gran cantidad con células del epitelio plano estratificado predominando las de las capas profundas.

En el eritema multiforme se observaron grupos de células con metaplasia epidermoide interpretándose el frotis como Negativo III.

En la Tabla III se presentan los hallazgos Ci-

tológicos en 10 carcinomas epidermoides de la cavidad oral.

### T A B L A III

#### HALLAZGOS CITOLÓGICOS EN

#### 10 CARCINOMAS EPIDERMÓIDES

Citología Positiva (Clase V) .....	5 casos
Sospechoso (Clase III) .....	1 caso
Sugestivo (Negativo III) .....	2 casos
Citología Negativa (Negativo II) ....	2 casos
% de Falso Negativo .....	28.58%

Como se puede apreciar en la tabla anterior fueron 5 casos de carcinoma los que se diagnosticaron con el Examen Citológico y luego se confirmaron con biopsia. Hubo un caso Sospechoso cuyo paciente murió 3 días después del examen y 2 Sugestivos en los cuales no se pudo determinar concretamente que fueran neoplasias malignas. Los únicos 2 casos de carcinomas cuya interpretación dió un Falso Negativo fueron: primero el de un paciente hombre de 53 años al cual ya se le había practicado biopsia anteriormente, y el resultado fue de Carcinoma Epidermoide grado II de la Amígdala. El examen Citológico reveló células de aspecto normal de epitelio plano estratificado y de tipo intermedio; este mismo resulta-

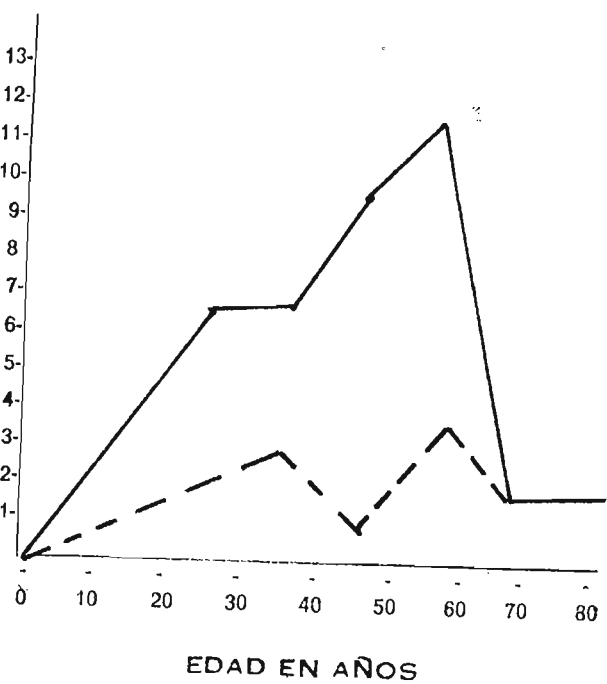
do dió en los 3 exámenes Citológicos que se le practicaron.

El otro caso Falso Negativo fue también un paciente hombre de 77 años que tenía 30 años de fumar 3 cajetillas de cigarillos al día y que durante 4 años había mascado tabaco. La Citología reportó Negativo II con marcada disqueratosis y sin encontrar células malignas; la biopsia nos dió una respuesta de Carcinoma Epidermoide del paladar grado I.

En el diagnóstico de Carcinomas solamente falló la Citología en dos casos de 7 que se presentaron, dando un porcentaje Falso Negativo de 28.57%. La veracidad de la biopsia fue de un 100%. Esta investigación por los resultados obtenidos, está de acuerdo con las hechas anteriormente en la Universidad de Tufts por Sklar G., Meyer I, Cataldo E. y Taylor R. (9) en donde el porcentaje Falso Negativo fue de 14.6% y la veracidad de la biopsia fue de 100%; es decir que el Examen Citológico tuvo un 85.4% de veracidad en el diagnóstico y en la presente investigación fue de 71.43%. Lo mismo en el estudio hecho por Rovin (6) se obtuvo un 73.85% de veracidad en una serie de 65 casos de carcinoma. Todos estos resultados, que indica el valor del Examen Citológico, se acercan a un mismo porcentaje de veracidad en el diagnóstico, lo que hace que nuestra confianza en dicho examen aumente.

# REPRESENTACION GRAFICA DE LAS TABLAS

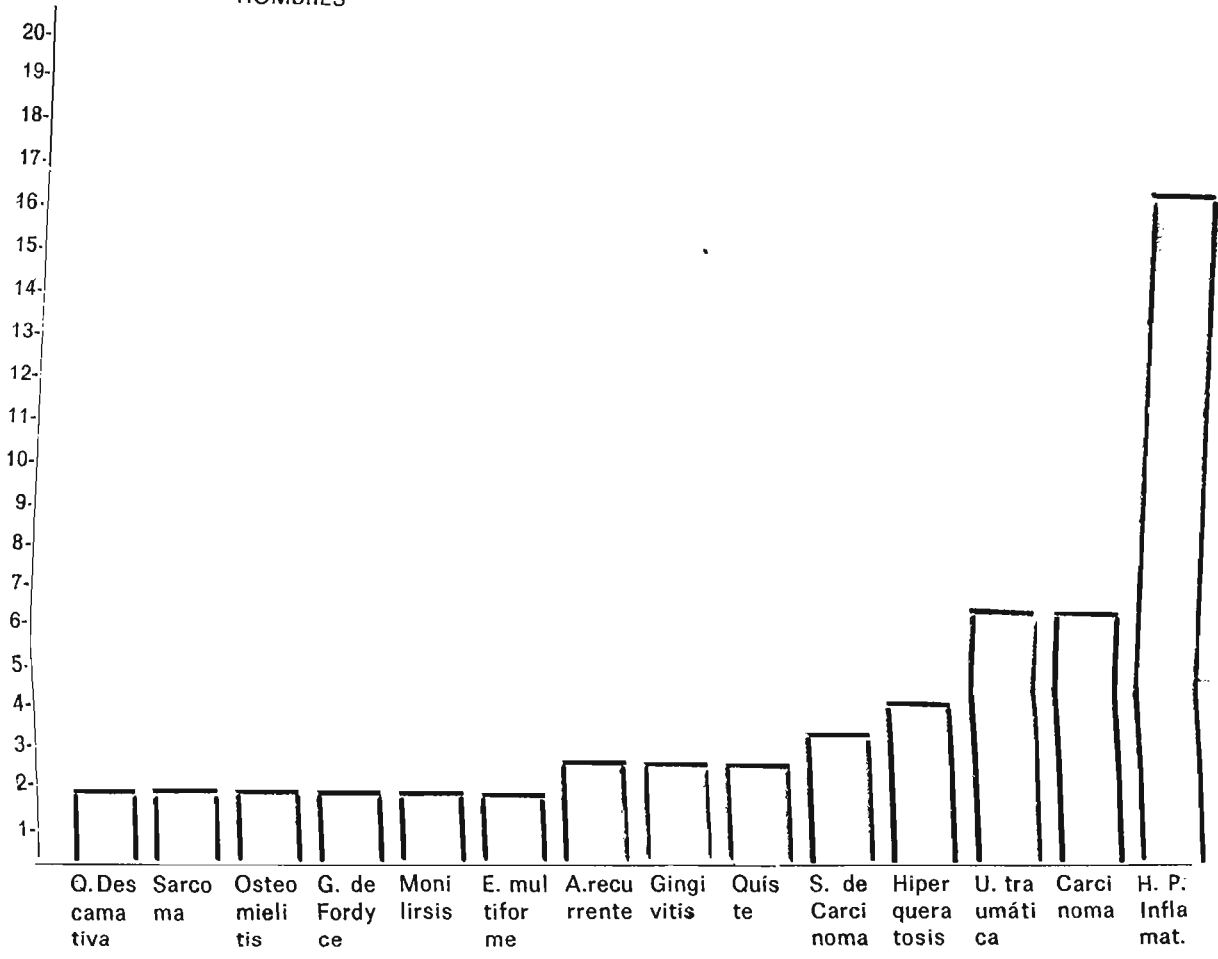
RO DE  
SOS



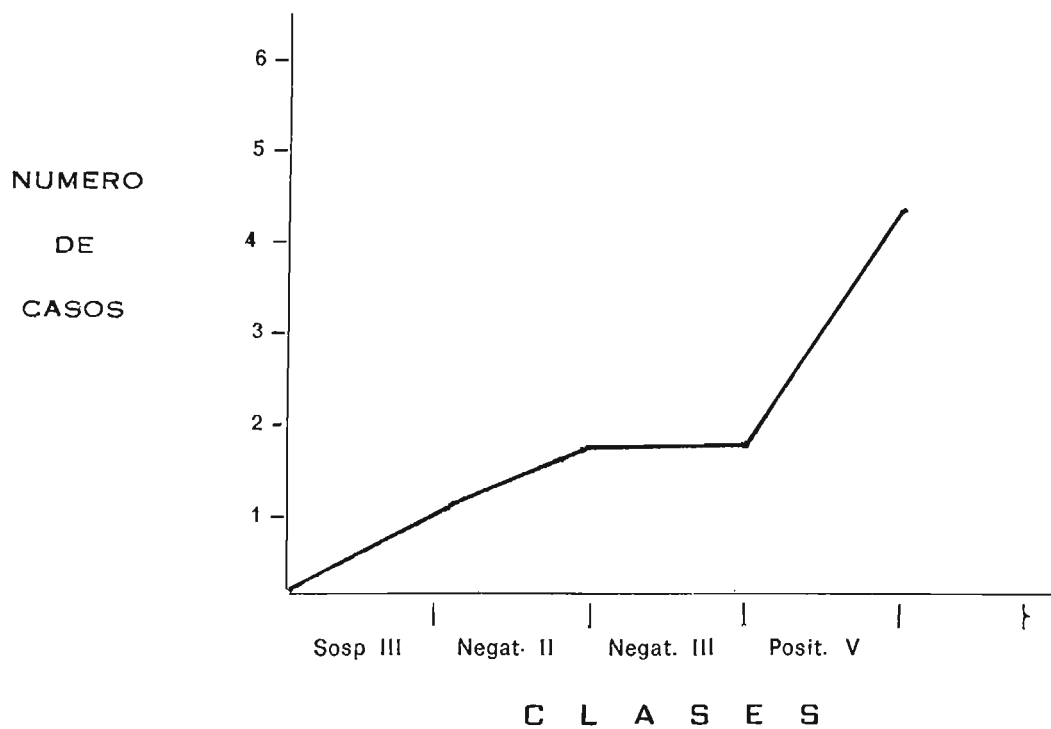
GRAFICA I CORRESPONDIENTE A TABLA I

— MUJERES  
- - - HOMBRES

DE



LESIONES PRESENTES



GRAFICA III CORRESPONDIENTE A TABLA III

## CAPITULO V

### RESUMEN

En el término de 10 meses se examinaron 51 pacientes con lesiones orales que sugerían malignidad; en ellos solamente se encontraron 7 Carcinomas orales. 3 casos Sugestivos y 1 Sospechoso. De los 7 casos solamente 2 nos dieron una interpretación Citológica de Falso Negativo para dar un porcentaje de 28.57% y un 71.43% de veraci-

dad del examen. De ello, así como de los resultados obtenidos en otras investigaciones los cuales se asemejan entre sí, se deduce la importancia que tiene el Examen Citológico para descubrir el Cáncer Oral en sus principios y poder así efectuar un tratamiento eficaz para su eliminación. Se tiene la certeza de que a medida que la Citología Exfoliativa de la cavidad oral se estudie e investigue más, se llegará a aceptarla como un examen rutinario ante situaciones que lo ameriten, debido a las bondades diagnósticas que dicho examen ofrece en la lucha contra el Cáncer.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

Las conclusiones basadas en los resultados de esta investigación son las siguientes:

- 1) El mejor método para obtener la muestra de Citología Oral consiste en el raspado mecánico de la lesión.
- 2) Para la fijación de las muestras en las láminas es preferible ocupar Pop Spray, solución especial de venta en el comercio, que el alcohol y la llama del mechero, porque además de ser más cómodo las células no corren el riesgo de quemarse y se colorean con mayor intensidad pudiéndose apreciar mayores detalles microscópicamente.
- 3) La técnica, aunque simple, requiere habilidad en ciertos pasos a fin de lograr la mejor muestra posible.
- 4) Nunca debe pretenderse que la Citología sea un sustituto de la biopsia, sino más bien un examen complementario de ella.
- 5) La Citología constituye un modo para detectar el cáncer temprano, pero no un método de diagnosis ciento por ciento.
- 6) Los tumores de tejido conectivo presentan problema que disminuyen la eficacia de la Citología Exfoliativa Oral. Esto es debido a que el raspado se hace sobre epitelio sano y no sobre el tejido conectivo profundo que es donde se encuentran las células malignas, dándonos así una respuesta falsa en estos casos.
- 7) En las lesiones Hiperqueratósicas (Leucoplasias) también existen problemas para la eficacia de la Citología, porque las superficies queratínicas evitan la remoción de las células anormales profundas en el epitelio, siendo necesario, para obtener un diagnóstico veraz en estas lesiones, recurrir a la biopsia.
- 8) En 7 casos de Carcinomas hubo dos Citologías falsamente negativas para un porcentaje de 28.57%.
- 9) La veracidad de la Citología con propósitos diagnósticos es más baja que la de la biopsia.
- 10) La veracidad de la biopsia fue de un 100% comparada con el 71.43% de la Citología.
- 11) La biopsia nos dá un diagnóstico definitivo e inmediato de la lesión sin ninguna discusión o duda, no haciéndolo así la Citología, la cual cuando es positiva es necesario confirmarla con una biopsia.
- 12) Cuando una Citología nos indique negativo hay que mantener la lesión en observación; cuando nos dé positivo hay necesidad de cerciorarse con una biopsia antes de proceder al tratamiento.
- 13) Para un diagnóstico definitivo no hay que confiar solamente en la Citología, por lo menos hasta el momento actual, y recordar que una Citología Positiva implica biopsia.
- 14) La Citología Exfoliativa de la cavidad oral es de gran ayuda para detectar las neoplasias incipientes. Todo clínico debe practicar este examen cuando las condiciones existentes no exijan una biopsia.
- 15) La Citología es de suma ayuda para controlar a los pacientes que han recibido tratamiento quirúrgico o por radiaciones para la eliminación de neoplasias malignas, pudiendo así determinarse si hay o no recidiva del tumor.
- 16) Debe practicar el examen Citológico cuando estén presentes estas condiciones: a) Cuando las lesiones sean dudosas pero no altamente significativas para indicar una biopsia. b) Cuando el paciente presente alteraciones cardiovasculares o sea un riesgo para la cirugía. c) En pacientes ancianos. d) Cuando se trate de pacientes sumamente aprensivos y presenten lesiones benignas. e) Cuando después de haber obtenido una biopsia Negativa, en un tejido que clínicamente nos dá la impresión de maligno, desea observarse algún cambio que experimente microscópicamente.
- 17) Las muestras Citológicas deben ser examinadas por Citólogos competentes, a los cuales se les proporcionará una breve historia de la lesión y el diagnóstico clínico, para facilitar así su interpretación microscópica.
- 18) La Citología nos indica cuándo debe de procederse a tomar una biopsia en una lesión sospechosa de malignidad. Esto será determinado por el resultado positivo o negativo que nos dé el Citólogo.



## CAPITULO VII

### BIBLIOGRAFIA

- 1) Papanicolaou G.: "Atlas de Citología Exfoliativa", Cambridge Mass., U.S.A. Harvard University Press, 1954, 15 Págs.
- 2) Tiece W. R.: "Oral Patology", U.S.A. Mc Graw - Hill - Book Company; 1965, 701 Págs.
- 3) Swancar James R.: "The Vale of Oral Cytology in Dental Practice" Oral Surgery, O. Medicine Oral O. Pathology, Vol. 24, Pág. 52-58, July, 1967.
- 4) Papanicolaou G.: "Atlas del Citodiagnóstico", Madrid, Editorial Rumania, 1964, 12 Págs.
- 5) Written J. B.: "Citologic Examination of Aspirated Material from Cystic or Cystlike Lesions". O Surgery, O. Medicine .O. Pathology, Vol. 25, Págs. 710-716, May 1968.
- 6) Rovin S.: "An Assessment of the Negative Oral Citologic Diagnosis, J.A.M. Dent. A.; 74: 759, 1967.
- 7) Cawson R. A.: "Citological Diagnosis of Oran Cancer", Brit. D.J., 108: 294, 1960.
- 8) Umiker W. O.: "Oran and Forygeal Esfoliative Cytology", C. A. 10 160-164, 1960.
- 9) Sklar G. Meyer I., Cataldo E. and Taylor R.: "Estudio Combinado de Citología Oral o Histopatología". O. Surgery, O. Medicine and O. Pathology. Vol. 25, Págs. 61-69, January 1968.