

**Eficacia del azul de toluidina y lugol en el diagnóstico precoz del cáncer bucal**

*Effectiveness of the toluidine blue and lugol in the precocious diagnosis of oral cancer*

**Dr. Carlos Albornoz López del Castillo <sup>I</sup>; Dr. Oscar Barrios Sánchez <sup>II</sup>; Dr. Pedro Rojas Casanova <sup>III</sup> ; Dr. Luís Bastian Manso <sup>IV</sup>; Dr. C Julio César Santana Garay <sup>V</sup>**

I Especialista de II Grado en Cirugía Maxilofacial. Profesor Instructor. Hospital Pediátrico Eduardo Agramonte Piña. Camagüey, Cuba albornoz@hpc.cmw.sld.cu

II Especialista de I Grado en Cirugía Maxilofacial. Profesor asistente

III Especialista de II Grado en Cirugía Maxilofacial.

IV Especialista de II Grado en Anatomía Patológica. Profesor Auxiliar.

V Dr.C Especialista de II Grado en Cirugía Maxilofacial. Profesor Titular.

---

**RESUMEN**

**Fundamento:** el cáncer bucal representa un significativo reto a nivel mundial y resulta necesario el conocimiento y utilización de medios auxiliares de diagnóstico. **Objetivo:** evaluar la eficacia del azul de toluidina y lugol en el diagnóstico precoz del cáncer bucal.

**Método:** se realizó un ensayo clínico fase II multicéntrico, abierto y no secuencial. El universo de estudio se constituyó por ciento ochenta y dos pacientes de ambos sexos con lesiones cancerizables del complejo bucal que acudieron a las consultas de Diagnóstico Precoz del Cáncer Bucal de los Hospitales Manuel Ascunce Doménech y María Curie de Camagüey entre enero del 2005 y enero del 2010. El número de lesiones analizadas se calculó según la fórmula para tamaños muestrales correspondientes al diseño de poblaciones infinitas, obteniéndose una muestra de dos ciento sesenta y siete lesiones.

**Resultados:** para el azul de toluidina se encontró una sensibilidad (S) del 93%, especificidad (E) del 98%, valor predictivo positivo (VPP) del 84%, valor predictivo negativo (VPN) del 99%, eficacia global (Eg) del 97%, y razón de verosimilitud positiva y negativa (LR+ y LR-) de 44.4 y 0.06 respectivamente. Para el lugol: S=90%, E=92%, VPP=60%, VPN=98%, Eg=92%, LR+=12.8 y LR-=0.1. Cuando se combinaron ambas tinciones con el requerimiento de que fueran positivas lo más significativo fue el aumento

en la especificidad. **Conclusiones:** se concluye planteando la alta eficacia de las tinciones en el diagnóstico precoz del cáncer bucal.

**DeCS:** TOLUIDINAS/uso diagnóstico; NEOPLASIAS DE LA BOCA; CLORURO DE TOLONIO/uso diagnóstico

---

## ABSTRACT

**Background:** the oral cancer represents a significant challenge at world level and it is necessary the knowledge and use of auxiliary diagnostic tools. **Objective:** to evaluate the effectiveness of the toluidine blue and lugol in the precocious diagnosis of oral cancer. **Method:** a multicentric phase II, open and not sequential clinical trial was performed. The study universe was constituted by one-hundred eighty-two patients of both sexes with cancerigenic lesions of the oral complex assisted at the consultations of Precocious Diagnostic of oral Cancer in the Hospitals Manuel Ascunce Domenech and María Curie from Camagüey between January 2005 and January 2010. The number of analyzed lesions was calculated according to the sample sizes formula corresponding to the design of infinite populations, being obtained a sample of two-hundred sixty-seven lesions. **Results:** for the toluidine blue was found a sensibility (S) of 93%, specificity (E) of 98%, positive predictive value (PPV) of 84%, negative predictive value (NPV) of 99%, global effectiveness (GE) of 97%, and reason of positive and negative verisimilitude (LR+ and LR-) of 44.4 and 0.06 respectively. For the lugol: S=90%, E=92%, PPV=60%, NPV=98%, GE=92%, LR+=12.8 and LR-=0.1. When both tinctions were combined with the requirement of being positive the most significant was the increase in specificity. **Conclusions:** it is concluded the high effectiveness of the tinctions in the precocious diagnosis of the oral cancer.

**DeCS:** TOLUIDINES/diagnostic use; MOUTH NEOPLASMS; TOLONIUM CHLORIDE/diagnostic use

---

## INTRODUCCIÓN

El cáncer bucal representa un significativo reto a nivel mundial con un promedio de 300 000 nuevos casos identificados cada año y se sitúa en la sexta posición entre todas las malignidades.<sup>1</sup> La localización en una zona de tan fácil exploración debería de justificar el diagnóstico de un alto porcentaje de tumores en fases precoces de su evolución. No obstante en ocasiones se presentan a consulta pacientes con tumores de más de 2cm por lo que su pronóstico se ensombrece significativamente.<sup>2</sup> Aún cuando la localización ayuda en el diagnóstico precoz, el dilema clínico es la diferenciación de las lesiones cancerosas de

una multitud de lesiones mal definidas, controversiales y pobremente entendidas que también ocurren en la cavidad bucal.<sup>3</sup> Actualmente la vía más efectiva para reducir la morbilidad y la mortalidad del cáncer bucal es el diagnóstico precoz seguido por un tratamiento adecuado.<sup>4</sup>

Debido a la variabilidad de signos y síntomas, el juicio clínico y la experiencia son importantes para el diagnóstico. Hasta el momento el único método definitivo es el examen histológico. Aunque deseable, obviamente la biopsia inmediata de cada lesión es impracticable y a menudo no está indicado.<sup>5</sup> Por este motivo algunas técnicas sencillas, económicas, rápidas de realizar, indoloras para el paciente y con buena sensibilidad y especificidad son aceptables para ayudar a la diferenciación de las lesiones benignas de cambios malignos precoces.<sup>6</sup>

El azul de toluidina es un colorante acidofílico y metacromático que pertenece al grupo de las tiacidas. Su característica principal es que tiñe selectivamente componentes ácidos de los tejidos, tales como sulfatos y radicales fosfatos incorporados en el ADN y ARN de las células. Por ello se utiliza para hacer tinciones nucleares "in vivo" basado en que las células displásicas y anaplásicas contienen cuantitativamente mayor cantidad de ácidos nucleicos y por tanto retienen la tinción. La sensibilidad de la prueba es alta y como inconvenientes se han señalado los falsos positivos que puede generar.<sup>7</sup>

El lugol es una tinción utilizada por su afinidad con el glucógeno de las células epiteliales lo que da como resultado una tinción de color carmelita - caoba marrón. La técnica se basa por tanto en que las células con más glucógeno retendrán la tinción y aquellas con una menor cantidad no la retendrán. Las células epiteliales normales contienen gran cantidad de glucógeno sin embargo las células carcinomatosas contienen muy poco en las líneas celulares superficiales y profundas. Por tanto, la reacción con el lugol no se producirá o será muy tenue, lo cual nos dará una zona no teñida tras la aplicación de la solución. Los estudios consultados sobre este tipo de tinción hacen referencia en su mayor parte a su aplicación como método de pesquizado del cáncer de cervix y esofágico. El lugol posee una mayor especificidad y una menor sensibilidad.<sup>8</sup>

La utilización conjunta del azul de toluidina y el lugol en la cavidad bucal se aplicó por Epstein, et al<sup>9</sup> en Canadá en 1992 y no existen otras investigaciones en el mundo que la aborden.

En nuestro país no existen estudios publicados sobre el tema y no se ha generalizado su aplicación en todas las consultas de Diagnóstico Precoz existentes por lo que este ensayo clínico es el primer estudio y contribuirá a un mejor conocimiento y aplicación de estos métodos y sentará las bases para su uso nacional lo que constituye una novedad científica. El objetivo de nuestra investigación es evaluar la eficacia del azul de toluidina y lugol en el diagnóstico precoz del cáncer bucal.

## MÉTODO

Se realizó un Ensayo Clínico fase II, de extensión diagnóstica, multicéntrico, abierto y no secuencial en pacientes con lesiones cancerizables del complejo bucal desde enero del 2005 a enero del 2010. El universo de estudio se constituyó por 182 pacientes de ambos sexos con lesiones cancerizables del complejo bucal que acudieron a las consultas de Diagnóstico Precoz del Cáncer Bucal (PDCB) de los Hospitales "Manuel Ascunce Doménech" y Oncológico "María Curie" de Camagüey. Se incluyeron todos los pacientes sin distinción de edad, sexo y color de la piel que presentaron leucoplasias, eritroplasias o líquen plano (LP) y otorgaron su consentimiento informado. Se excluyeron los pacientes que presentaron sensibilidad a los yoduros, personas con incapacidad mental y/o trastornos psíquicos severos y mujeres embarazadas o en período de lactancia.

Descripción de los medios diagnósticos

Azul de toluidina 1%

Azul de toluidina.....1g

Acido acético.....10cc

Alcohol absoluto.....4.19cc

Agua destilada.....86cc

LUGOL 2%

Yodo.....2g

Yoduro de potasio.....4g

Agua destilada.....100cc

Se siguió la siguiente secuencia de aplicación:

1- Fotografía de la lesión no tratada.

2-Limpieza de la lesión con ácido acético 1% por 20 segundos con un aplicador.

3-Secado suave de la lesión sin raspar ni traumatizar los tejidos.

4-Aplicación de la solución de azul de toluidina 1% en la lesión sospechosa por 30 segundos con un aplicador y decoloración con ácido acético1%. Evaluación del teñido y fotografía de la lesión.

5-Aplicación de la solución de lugol al 2% por 20 segundos en la lesión con un aplicador y evaluación del teñido con fotografía de la lesión.

6- Enjuague bucal tres veces con ácido acético 1% por un minuto.

7-Enjuague bucal con agua.

Se realizó biopsia excisional o incisional de las áreas teñidas con el azul de toluidina y las no teñidas con el lugol y se envió al departamento de Anatomía Patológica para su evaluación por un sólo patólogo,

El número de lesiones analizadas se calculó según la fórmula para tamaños muestrales correspondiente al diseño de poblaciones infinitas:

$$N = \frac{z^2 \cdot p \cdot q}{d^2}$$

Donde:

N= tamaño de la muestra, Z=  $\pm 1.96$  Coeficiente de confianza que pertenece a una distribución normal, P= Proporción de casos positivos en la muestra en un estudio preliminar, Q= Complemento de p (q= 1-p) y D= precisión de la estimación.

Asumiendo a  $p \cdot q$  como 0.25 por ser la varianza máxima que se puede presentar y  $d = 0.06$ , se obtiene un tamaño muestral de 267 lesiones.

A partir de las copias de los Cuadernos de Recogida de Datos se introdujeron los datos en Base de Datos confeccionados con este propósito en el sistema EPI-INFO. El análisis estadístico se realizó a través del paquete estadístico SPSS sobre Windows, Versión 10.6 y se realizaron tablas de contingencia. La eficacia global (Eg), sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) y razón de máxima verosimilitud (LR) se calcularon de la siguiente forma:

$$S = \frac{VP}{VP + FN} \text{ (verdaderos positivos) / VP + FN (falsos negativos)}$$

$$E = \frac{VN}{VN + FP} \text{ (verdaderos negativos) / VN + FP (falsos positivos)}$$

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP}$$

$$VPN = \frac{VN}{VN + FN}$$

$$Eg = \frac{VP + VN}{VP + VN + FP + FN}$$

$$LR+ = \frac{VP / VP + FN}{FP / FP + VN}$$

$$LR- = \frac{FN / VP + FN}{VN / FP + VN}$$

LR = 1 La probabilidad de que el paciente tenga la enfermedad para la cual se hizo la prueba es la misma antes de la prueba que después de la prueba.

LR > 10 ó LR < 0.1 Resultado conclusivo en la probabilidad pretest y post test.

5 < LR < 10 y 0.1 < LR < 0.2 Cambios moderados en la probabilidad pretest y post test.

2 < LR < 5 y 0.2 < LR < 0.5 Una pequeña probabilidad.

0.5 < LR < 2 Menos y posiblemente no importante

## RESULTADOS

Se estudiaron un total de 182 pacientes con 267 lesiones. Las lesiones fueron divididas en dos grupos: Lesiones benignas y/o con displasia leve y Carcinomas y displasias moderadas / severas.

Esta división se fundamentó en la hipótesis del trabajo donde se señala que al agrupar las lesiones displásicas leves con las benignas y las displásicas moderadas y severas con los carcinomas, la eficacia de ambas tinciones es mayor que si se agruparan habitualmente como lesiones benignas y displásicas - carcinomas. Se calculó el número de tinciones positivas y negativas, lo cual permitió determinar la S, E, VPP, VPN, Eg y la razón de máxima verosimilitud para los casos positivos y negativos. Para demostrar la hipótesis del estudio los resultados se compararon con los obtenidos de la forma habitual. El análisis comparativo mostró que en todos los casos se obtuvieron resultados ventajosos para todos los parámetros estudiados. Al estudiar el azul de toluidina vemos que la sensibilidad aumentó de un 49% a un 93% y la eficacia global del 87% al 97%. La especificidad se mantuvo igual. El lugol aumentó su sensibilidad de un 54% a un 90% y la eficacia global de un 82% a un 92%. La especificidad mejoró ligeramente de un 91% a un 92%.

Cuando se consideró al azul de toluidina y lugol juntos con el requerimiento de que ambas tinciones fueran positivas lo más significativo fue el aumento en la especificidad (99%). La razón de verosimilitud mostró resultados conclusivos para demostrar nuestra hipótesis. (Tablas 1 y 2)

**Tabla 1. Lesiones estudiadas según diagnóstico histológico y resultado de ambas tinciones agrupadas de forma habitual**

Prueba	Azul de Toluidina		Lugol		Azul de Toluidina y Lugol
	Displasia/Cáncer	Benigna	Displasia/ cáncer	Benigna	
Positiva	30	3	33	18	51
Negativa	31	203	28	188	216

S=0.49	S= 0.54	S=0.42
E=0.98	E = 0.91	E=0.99
VPP=0.90	VPP=0.64	VPP=0.96

VPN=0.86	VPN=0.87	VPN=0.85
Eg= 0.87	Eg=0.82	Eg=0.86
LR+=35.07	LR+=6.75	LR+=87.5
LR -=0.51	LR -=0.49	LR -=0.57

**Tabla 2. Lesiones estudiadas según diagnóstico histológico y resultado de ambas tinciones agrupadas de acuerdo a la hipótesis del estudio**

Prueba	Azul de Toluidina		Lugol		Azul de Toluidina
	Displasia mod-sev/ Cáncer	Benigna-displasia leve	Displasia mod-sev/ cáncer	Benigna-displasia leve	
Positiva	28	5	27	18	
Negativa	2	232	3	219	

S=0.93	S= 0.90	S=0.83
E=0.98	E= 0.92	E=0.99
VPP=0.84	VPP=0.60	VPP=0.92
VPN=0.99	VPN=0.98	VPN=0.97
Eg=0.97	Eg=0.92	Eg=0.97
LR+=44.4	LR+=12.8	LR+=98.8
LR -=0.06	LR -=0.1	LR -=0.16

Hay que destacar que cuando se analizó la sensibilidad de forma más detallada vemos que para los carcinomas el azul de toluidina alcanza un 100% tanto para las variantes in situ e infiltrantes. Las displasias severas y moderadas mostraron resultados similares para el azul de toluidina y el lugol con un 100% y 66.7% respectivamente. La sensibilidad global del lugol para los carcinomas fue de un 95 % ya que sólo la mitad de los carcinomas in situ fueron identificados. (Tabla 3)

**Tabla 3. Sensibilidad del azul de toluidina y lugol según diagnóstico definitivo**

Diagnóstico histológico	No.	%	Azul de Toluidina		Lugol	
			Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
Carcinomas	20	7.5	20	0	19	
Displasias moderada/severa	10	3.7	8	2	8	
Queratosis/ displasia leve	166	62.2	4	162	6	
Líquen plano	71	26.6	1	70	12	
Total	267	100	33	234	35	

Sensibilidad		
Carcinomas	20/20 (100%)	20/19 (95%)
In situ	2/2 (100%)	2/1 (50%)
Infiltrante	18/18 (100%)	18/18 (100%)
Displasia	10/8 (80%)	10/8 (80%)
Moderada	6/4 (66.7%)	6/4 (66.7%)
Severa	4/4 (100%)	4/4 (100%)

## DISCUSIÓN

Richard <sup>10</sup> describió el procedimiento con azul de toluidina en 1963 y su utilidad en el diagnóstico de las displasias de cérvix uterino y en 1964 Neibel y Chomet <sup>11</sup> fueron los primeros en aplicar el test en la cavidad bucal y refieren una S y E del 100%. Silverman <sup>12</sup> realizó una investigación en 132 pacientes sospechosos de padecer cáncer bucal ó lesiones con displasia epitelial y comprobó que la técnica fue capaz de identificar un altísimo porcentaje de lesiones displásicas. La reacción fue precisa en 97 de 99 displasias y carcinomas y en 23 de 33 lesiones benignas para una S del 98%, E del 70% y Eg del 91%. Warnakulasuriya y Johnson <sup>13</sup> evalúan el método en enjuagatorios al 1% en 102 pacientes con 145 lesiones. En el grupo de los 18 carcinomas, todos retuvieron la tinción y no hubo FN para una S del 100%.

La utilización del azul de toluidina puede ayudar a monitorizar lesiones sospechosas durante períodos prolongados, determinar el lugar de la biopsia, delimitar los márgenes de



la lesión durante la intervención quirúrgica, identificar lesiones cancerizables con un incremento a nivel molecular del riesgo de cáncer y predecir el riesgo a la transformación maligna de las lesiones cancerizables con mínima o ninguna displasia.<sup>14</sup>

Schiller fue el primero en describir el uso del lugol para detectar anomalías del epitelio cervical en 1933. Posteriormente se utilizó para delinear los cambios malignos en este epitelio y en el esófago.<sup>15</sup>

La utilización conjunta del azul de toluidina y lugol se ha aplicado a carcinomas de cérvix y esófago. En la cavidad bucal sólo Epstein, et al<sup>9</sup> analizan la utilización de ambas tinciones. Cuando se analizó el resultado de ambas tinciones con el requerimiento de que fueran positivas se redujo la S (0.85) pero la E se incrementó (0.89). El VPP permaneció alto (0.94) y el VPN se redujo (0.73). En nuestra investigación ocurrió lo mismo. La S se redujo a 0.83 mientras que la E se incrementó a 0.99. El VPP se incrementó a 0.92 y el VPN se redujo ligeramente a un 0.97. Los autores antes mencionados sugieren que la aplicación del azul es un método simple y de valor debido a su alta S. Sin embargo apuntan que la tinción tiene menos E por los posibles FP que puede originar en lesiones benignas. En contraste con estos resultados, nosotros obtuvimos una E de 0.98, incluso mayor que la S. La explicación para estos resultados estaría en la estricta selección de las lesiones estudiadas guiada por los criterios diagnósticos establecidos en el ensayo clínico. En muchos estudios se incluyen lesiones benignas tales como tejido de granulación, papilomas ulcerados, ulceraciones superficiales, etc., que en nuestra opinión aumentan el número de FP y por tanto disminuye la E. Además en nuestros pacientes se eliminaron los factores traumáticos, inflamatorios y otros irritantes antes de aplicar la tinción lo cual favoreció la reducción de FP. La alta E y S encontrada corrobora la idea de que estas lesiones "benignas" puedan seguirse periódicamente a través de su uso y minimizar la realización de biopsias excesivas.

El impacto económico y social sería alto. Desde el punto de vista psicológico, el paciente tolera mejor las aplicaciones seriadas de las tinciones que las biopsias repetidas con la morbilidad que ello conlleva: dolor, inflamación, hematomas, infección, deshidratación, limitación funcional, etc.

## **CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos demostraron la hipótesis del estudio. El azul de toluidina y el lugol mostraron una alta eficacia en el diagnóstico precoz de lesiones displásicas moderadas-severas y carcinomas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rosin MP, Poh CF, Mark J, Williams M, Gallagher R, Mac Aulay C, et al. New hope for an oral cancer solution: together we can make a difference. *J Can Dent Assoc.* 2008; 74(3):261-6.
2. Lingen MW, Kalmar JR, Karrison T, Speight PM. Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. *Oral Oncology.* 2008; 44(1):10-22.
3. Curado MP, Hashibe M. Recent changes in the epidemiology of head and neck cancer. *Curr Opin Oncol.* 2009; 21(3):194-200.
4. Cruz GD, Ostroff JS, Kumar J, Gajendra S. Preventing and detecting oral cancer: Oral health care provider's readiness to provide health behavior counseling and oral cancer examinations. *J Am Dent Assoc.* 2005; 136(5):594-682.
5. Gajendra S, Cruz G, Kumar J. Oral cancer prevention and early detection: knowledge, practices, and opinions of oral health care provider in New York State. *J Cancer Educ.* 2007; 21(3):157-62.
6. Patton LL, Epstein JB, Kerr AR. Adjunctive techniques for oral cancer examination and lesion diagnosis: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc.* 2008; 139(7):896-905.
7. Gillenwater A, Papadimitrakopoulou V, Richards- Kortum R. Oral premalignancy: new methods of detection and treatment. *Curr Oncol Rep.* 2006; 8(2):146-54.
8. Millogo FT, Akotiongna M, Lankoande J. Cervix cancer screening in a health district (Burkina Faso) by voluntary biopsies after the application of acetic acid and lugol. *Bull Soc Pathol Exot.* 2004; 97(2):135-8.
9. Epstein J B, Scully C, Spinelli J J. Toluidine blue and Lugol's iodine application in the assessment of oral malignant disease and lesions at risk of malignancy. *J Oral Pathol Med.* 1992; 21:160-3.
10. Richart RM. A clinical staining test for the in vivo delineation of dysplasia and carcinoma in situ. *Am J Obstet Gynecol.* 1963; 86:703-12.
11. Neibel HH, Chomet B. In Vivo test for delineation of oral intraepithelial neoplastic change – preliminary report. *JADA.* 1964; 68:801-6.
12. Silverman S, Migliorati C, Barbosa J. Toluidine blue staining in the detection of oral precancerous and malignant lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1984; 57(4):379-82.
13. Warnakulasuriya K A, Johnson N W. Sensitivity and specificity of OraScan toluidine blue mouthrinse in the detection of oral cancer and precancer. *J Oral Pathol Med.* 1996; 25(3):97-103.

14. Epstein JB, Gorsky M, Fischer D, Gupta A, Epstein M, Elad S. A survey of the current approaches to diagnosis and management of oral premalignant lesions. J Am Dent Assoc. 2007; 138(12):1555-62.

15. Hashimoto CL. Lugol dye spray chromoendoscopy establishes early diagnosis of esophageal cancer in patients with primary head and neck cancer. Am J Gastroenterol. 2005; 100(2):275-82.

Recibido: 20 de octubre de 2009

Aprobado: 10 de marzo de 2010

*Dr. Carlos Albornoz López del Castillo. Email: [albornoz@hpc.cmw.sld.cu](mailto:albornoz@hpc.cmw.sld.cu)*