



УНИВЕРЗИТЕТ СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ – СКОПЈЕ
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО МАКСИЛОФАЦИЈАЛНА ХИРУРГИЈА



НИКОЛОВСКИ БРУНО

ЕВАЛУАЦИЈА НА МЕТОДИ ЗА РАНА ДЕТЕКЦИЈА НА ОРАЛНИТЕ ПРЕМАЛИГНИ И МАЛИГНИ ЛЕЗИИ

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментор: проф. д-р ДАНИЦА ПОПОВИЌ МОНЕВСКА

Скопје, 2020



UNIVERSITY Ss. CYRIL AND METHODIUS – SKOPJE
FACULTY OF DENTISTRY
DEPARTMENT FOR MAXILLOFACIAL SURGERY



NIKOLOVSKI BRUNO

EVALUATION OF EARLY DETECTION METHODS OF ORAL PREMALIGNANT AND MALIGNANT LESIONS

DOCTORAL DISSERTATION

Mentor: prof. dr. DANICA POPOVIK MONEVSKA

Skopje, 2020



АПСТРАКТ

И покрај бројните достигнувања и новини во третманот на малигните заболувања во последните 50 години, само 50% од случаите со орален канцер постигнуваат пет годишно преживување. Ниската стапка на преживување на пациентите заболени од орален карцином може да се припише на напреднатиот стадиум на болеста во моментот на дијагностицирањето, бидејќи повеќе од 60% од пациентите се јавуваат на преглед во поодминат клинички стадиум на болеста. Еден пристап кон решавање на овој проблем е да се подобри способноста и подготвеноста на лекарите навремено преку примена на современи дијагностички постапки за идентификување на потенцијално малигни лезии како и почетните но и асимптомни канцерозни лезии да го детектираат оралниот карцином во нивната најрана можна или почетна фаза.

Земајќи ги во предвид бројните литературни податоци во кои се елаборирани позитивните и негативни искуства од примена на дополнителни современи дијагностички процедури во детекција на оралните малигни и премалигни лезии, а во недостаток на посуптилни студии изведени кај нас ги поставиме основните цели на ова истражување:

- Да ја одредиме точноста на клиничката инвестигација со инспекција и палпација во детекцијата на премалигни и малигни лезии
- Да ја утврдиме точноста, сензитивноста (Se) и специфичноста (Sp) на тестот со толуидин сино во детекција на премалигни и почетни малигни лезии во споредба со златниот стандард хируршка биопсија

- Да ја утврдиме точноста, сензитивноста (Se) и специфичноста (Sp) на тестот со клеточна ексфолијативна цитологија во детекција на премалигните и почетни малигни лезии во споредба со златниот стандард- хируршка биопсија
- Да ја утврдиме точноста, сензитивноста (Se) и специфичноста (Sp) на Velscope скрининг методот во детекција на премалигните и почетните малигни лезии во споредба со златниот стандард- хируршка биопсија.
- Да ја процениме ефикасноста во дијагностицирањето на потенцијално малигните и малигни лезии кога клиничкиот преглед се комбинира со една од наведените скрининг методи.

За реализација на поставените цели во истражувањето беа вклучени вкупно 120 испитаници поделени во две групи: испитувана и контролна група. Испитуваната група ја сочинуваа 90 пациенти со дијагностицирани малигни, потенцијални малигни и суспектни малигни лезии. Испитуваната група беше поделена на три подгрупи. Првата подгрупа ја оформија 30 пациенти со клинички потенцијално малигни орални лезии. Триесет пациенти со клинички високо суспектни орални лезии за малигнитет беа вклучени во втората подгрупа испитаници, додека пак третата подгрупа испитаници ја оформија 30 пациенти со претходна историја на малигно орално заболување.

Контролната група ја сочинуваа 30 пациенти со здрава и интактна орална слузокожа.

Сите избрани пациенти се проследени според дијагностички протокол на заболувањето (American Joint Commission on Cancer), со претходна предоперативна подготовка, дијагностика, хируршка ексцизија и постоперативно клиничко следење. Изборот на пациентите во испитуваната и контролната група беше направен според одредени критериуми за вклучување и исклучување од студијата.

Реализација на истражувањето (селекцијата на учесниците од испитуваната група) е спроведена на Универзитетската клиника за максилофацијална хирургија при Универзитетот “Св. Кирил и Методиј” во Скопје и Клиниката за болести на устата и пародонтот при Универзитетскиот стоматолошки клинички центар “Св. Пантелејмон” во Скопје. Во цитираните институции е реализиран клиничкиот преглед и спроведени се

дијагностичките постапки (витално боење со Толуидин сино, орална “brush” биопсија и примена на VELscope имиџинг системот) кај групата испитаници од сите три подгрупи.

Патохистолошката анализа на примероците од испитуваната група се изведуваше на Институтот за патолошка анатомија на Медицинскиот факултет при Универзитетот “Св. Кирил и Методиј” во Скопје.

Статистичка обработка на резултатите - Базата на податоци е анализирана со статистичките програми STATISTICA 7.1 и SPSS for Windows ver. 20. Статистичките серии, според дефинираните варијабли од интерес се табеларно и графички прикажани.

Со евалуација на резултатите добиени од нашето истражување докажавме дека двете скрининг методи, витално боење со толуидин сино-ТС и оралната Brush биопсија имаат значајна дијагностичка вредност кај сите три групи испитаници, со поголема дијагностичката вредност на двете методи кај пациентите со високо суспектни лезии за ОСЦК.

VELscope методот во ова истражување даде најслаби резултати во детекција на дисплазија и ОСЦК особено во групата на пациенти со потенцијално малигни заболувања. Исто така овој метод дава повеќе лажно позитивни резултати и може да предизвика стрес кај пациентот и непотребни дополнителни интервенции. Примена на VELscope системот како дополнително средство за детекција, има значајна дијагностичка вредност кај пациентите со орални лезии високо суспектни за карцином - N2, како и кај пациентите со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви(N3).

Комбинацијата на методите КОП и оралната Brush биопсија се покажа како најдобра опција во детекција на оралните потенцијално малигни и малигни лезии и ја препорачуваме како најдобара скрининг постапка особено за пациентите со долготрајни премалигни лезии и кај високо ризичните пациенти.

Во специјалистичките стоматолошки ординации каде има најголема фреквенција на пациенти, најточна, најлесна и неинвазивна скрининг метода е комбинацијата на КОП и витално боење со Толуидин сино. Сугерираме Толуидин сино методот да биде составен дел на скринингот за орален канцер во секоја специјалистичка стоматолошка ординација.

За следење на потенцијално малигни заболувања во стоматолошките ординации преферабилен избор е КОП во комбинација со ТС методот, но при дијагностицирање на лезии кои се високо суспектни за карцином препорачливо е покрај КОП да се примени оралната Brush биопсија како поточен и посигурен скрининг метод. Позитивните резултати и резултатите кои оставаат сомнеж од предложените скрининг методи КОП и Толуидин сино или КОП и оралната Brush биопсија мораат во најбрз временски период со хируршка биопсија да бидат проследени преку патохистолошка анализа.

1

ABSTRACT

Despite the numerous advances and innovations in the treatment of malignant diseases in the last 50 years, only 50% of cases achieve a five-year survival. The low survival rate of patients with oral cancer can be attributed to the advanced stage of the disease at the time of diagnosis, as more than 60% of patients come to a medical examination at a more advanced clinical stage of the disease. One approach to addressing this problem is to improve the ability and preparedness of physicians in a timely manner by employing modern diagnostic procedures to identify potentially malignant lesions as well as primary and asymptomatic carcinoma lesions to detect oral cancer at their earliest possible or initial stage.

Taking into account the numerous literature data that elaborate the positive and negative experiences of applying additional modern diagnostic procedures in the detection of oral potentially malignant and malignant lesions, and in the absence of more subtle studies performed in our country, we set out the main objectives of this study:

- to determine the accuracy of clinical examination by conventional oral examination by inspection and palpation in detection of potentially malignant and malignant lesions
- to determine the accuracy, sensitivity (SE) and specificity (SP) of toluidine blue test in the detection of potentially malignant and initial malignant lesions compared to gold standard surgical biopsy
- to determine the accuracy, sensitivity (SE), and specificity (SP) of the cell exfoliative cytology test in detecting potentially malignant and initial malignant lesions compared to the gold standard surgical biopsy

- to determine the accuracy, sensitivity (SE) and specificity (SP) of the Velscope screening method in detecting potentially malignant and initial malignant lesions compared to the gold standard surgical biopsy.

- to evaluate the efficacy in diagnosing potentially malignant and malignant lesions when the clinical examination is combined with one of the screening methods listed.

In order to realize the goals set in the research, a total of 120 patients were divided into two groups: the examined and the control group. The study group consisted of 90 patients diagnosed with malignant, potential malignant and suspected malignant lesions. The study group was divided into three subgroups. The first subgroup was formed by 30 patients with clinically potentially malignant oral lesions. Thirty patients with clinically suspected oral malignant lesions were included in the second subgroup of subjects, while the third subgroup of patients formed 30 patients with a history of malignant oral disease.

The control group consisted of 30 patients with healthy and intact oral mucosa. All selected patients were followed according to the American Joint Commission on Cancer Diagnosis Protocol, with pre-operative preparation, diagnostics, surgical excision and post-operative clinical follow-up. The selection of patients in the study and control group was made according to certain inclusion and exclusion criteria.

The realization of the research and selection of participants from the study group was conducted at the University Clinic of Maxillofacial Surgery at the University "Ss. Cyril and Methodius" in Skopje and the Clinic for Oral pathology and periodontology at the University Dental Clinical Center "St.Pantelejmon" in Skopje. Clinical examination was performed at the cited institutions and diagnostic procedures vital staining with Toluidine Blue, oral brush biopsy and Velscope imaging system were performed in subjects from all three subgroups.

The histopathological analysis of the specimens of the study group was performed at the Institute of Pathological Anatomy at the Faculty of Medicine at the University of "Ss. Cyril and Methodius" in Skopje.

The database is analyzed with the statistical programs STATISTICA 7.1 and SPSS for Windows ver. 20. Statistical series according to defined variables of interest are tabulated and graphically presented.

By evaluating the results of our study, we have shown that both screening methods, vital staining with toluidine blue-TB and oral Brush biopsy have significant diagnostic value in all three groups of subjects, with higher diagnostic value of both methods in patients with highly suspected OSCC lesions.

The VELscope method in this study gave the weakest results in the detection of dysplasia and OSCC especially in the group of patients with potentially malignant lesions. This method also gives more false positive results and can cause stress to the patient and unnecessary additional interventions. The use of the VELscope system as an additional means of detection has significant diagnostic value in patients with highly suspected oral lesions for cancer - N2, as well as in patients with oral lesions and a history of malignant oral disease - local recurrences (N3).

The combination of COE method and oral Brush biopsy proved to be the best option for detecting potentially malignant and malignant oral lesions and we recommend it as the best screening procedure especially for patients with long-term premalignant lesions and in high-risk patients.

In the specialist dental practice where the patient frequency is highest, the most accurate, easiest and non-invasive screening method is the combination of COE and vital staining with toluidine blue. We suggest the Toluidine blue method to be an integral part of oral cancer screening in any specialist dental practice.

For the detection of potentially malignant diseases in the dental practice, COE is preferable in combination with the TB method, but in the diagnosis of lesions that are highly susceptible to oral cancer it is advisable to use oral Brush biopsy as a more accurate and reliable method besides COE. Positive and suspicious results of the proposed screening methods COE and Toluidine blue or COE and oral brush biopsy must be followed up by a pathological examination at the earliest possible time with a surgical biopsy.

СОДРЖИНА

1. ВОВЕД	4
2. ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД	13
3. ХИПОТЕЗА	34
4. ЦЕЛ НА ТРУДОТ	36
5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД НА РАБОТА	38
6. РЕЗУЛТАТИ	59
7. ДИСКУСИЈА	103
8. ЗАКЛУЧОЦИ	166
9. ЛИТЕРАТУРА	173

1

ВОВЕД

Во усната празнина и орофарингсот се одвиваат значајни витални функции, во прв ред мастикација, како почетна функција на гастроинтестиналниот систем, голтање, респирација и говор. Сите овие витални биолошки функции на човекот можат да бидат се загорзени т.е отежнати, па дури и оневозможени при појава на неоплазми во тој анатомски простор. Во лицевовиличната регија неоплазмите можат да потекнуваат од најразличните ткива како од слузокожата на усната празнина, така од коските на вилиците, плунковните жлезди дури и тумори од одонтогено потекло. Сепак најчест тумор во усната празнина е сквамoцелуларниот карцином (ОСЦК) кој потекнува од оралната мукоза.

Сквaмoцелуларниот карцином е меѓу шесте најмалигни заболувања поради брзиот инвазивен и деструктивен раст, брзите локални метастази и тенденцијата кон локални рецидиви. Хируршкиот третман е следен најчесто со радиотерапија, тој е особено тежок и со назначен морбидитет и е сериозен предизвик за хирурзите и онколозите кои работат со таа патологија. Покрај бројните достигнувања и новини во третманот на оралниот планоцелуларен карцином, во последните 20 години нема значајно подобрување на прогнозата, па петгодишното постоперативно преживување се движи од 40-50% од заболениите ^{1,2}. Оваа неповолна статистичка бројка најверојатно се должи првенствено на задоцнетото дијагностицирање на туморот како и на малигниот потенцијал на ОСЦК.

Во 2016 година, оралниот карцином е дијагностициран кај повеќе од 600.000 случаи ширум светот, со што тој се позиционира како шесто најчесто малигно заболување во светот. Кога се говори за смртноста од малигномите, впечатлив е податокот дека тие се евидентираат како втора најчеста причина за смртност веднаш по

кардиоваскуларните заболувања ^{3,4}. Американското Канцер Здружение (American Cancer Association) потенцира дека тутунот и алкохолот се сметаат за главни ризик фактори за појава на ОСЦК, додека инфекцијата со хуманиот папилома вирус (ХПВ) се номимира како водечки ризик фактор во случаите на орофарингеален карцином. За ОСЦК е потврдено дека се појавува во 96% од сите случаи на карциноми во усната празнина ^{5,6}.

Се верува дека оралниот карцином се развива на слузокожата во која се настанати поедини генетски мутации кои во одреден временски период доведуваат до клиничка манифестација на малигномот. Кои фактори доведуваат до генетските мутации сеуште не е докрај истражено иако се знае за некои егзогени фактори како причинители на ова сериозно заболување ².

Во врска со овој став, Slaughter ја предложил теоријата позната како "поле на канцеризација" што укажува на можноста на слузокожата во оралната празнина која е со генетски мутации при хронична изложеност на непознати нокси се развие орален карцином, или пак одредена сомнителна лезија да прогредира или се трансформира во малигном ⁷. Иако оваа теорија е прилично селективно прифатена, сепак постои хомоген став дека пациентите кои се заболени од орален карцином и кои преживуваат пет години по нивното дијагностицирање и третман, имаат до 35% поголема можност за развој на барем еден нов примарен тумор во тој период ⁸. Во овие стручни и научни кругови како најчеста причина за неуспех на третманот и смрт кај пациентите со орален карцином се посочуваат локалните рецидиви и вратните метасатази.

Ниската стапка на преживување на заболениите од орален карцином може да се препише на напреднатиот стадиум на болеста во моментот на дијагностицирањето. Повеќеод 60% од пациентите се јавуваат на преглед во III и IV клинички стадиум на болеста, во тие стадиуми на болест може многу малку да се направи или скоро ништо. Овие лоши статистички индикатори изгледаат поразително знаејќи дека заболувањето главно започнува во површинските слоеви на оралниот епител кој е лесно достапен за директна визуелна и тактилна инвестиација, всушност кога најмногу постои можност за рана детекција.

Заклучокот дека некои лезии се игнорирани или пропуштени од страна на пациентите, здравствените работници, или од двете страни е вистинит и неизбежен.

Делумно, евидентните пропусти може да се должат дури и на недоволното познавање или свесност дека дури и малите асимптомни промени или лезии можат да имаат сигнификантен малигнен потенцијал.

Еден од најчесто промовираните пристапи кон решавање на овој проблем е да се подобри подготвеноста на лекарите навремено да го детектираат оралниот карцином преку препознавање на потенцијално малигните промени или канцерогени лезии во нивната најрана можна или почетна фаза. Оваа посакувана, но и потребна состојба може да се постигне со зголемување на јавната свест за значењето на редовните скрининг процедури за идентификување на малигните и асимптомни канцерогени лезии и присутни преканцерози. Друга стратегија го опфаќа развојот и примената на дијагностичките средства кои можат да помогнат општиот стоматолог и стоматолозите специјалисти полесно да ги идентификуваат или проценат присутните орални лезии од непознато потекло ^{9,10}.

Mehrotra и сор., посочуваат дека постојат два пристапи за откривање орална дисплазија и канцер: орални канцер скрининг програми кои ги идентификуваат асимптомните пациенти со сомнителни лезии и специфични дијагностички средства за идентификување дисплазија и почетен орален карцином кај асимптомни пациенти со орална абнормалност ¹¹. Појавата на орален карцином најчесто е нотирана на возраст над 40 години, со пик на појавување на 60-годишна возраст при што двојно повеќе е афектирана машката популација. Неодамна, неколку студии од понов датум, сугерираа дека во светски рамки, карциномите на главата и вратот, а особено карциномот на јазикот се зголемува кај младите луѓе ¹². Факторите кои придонесуваат за овој пораст сеуште се непознати, но како суспектни етиолошки агенци се вклучуваат тутунот за цваќање, различни форми на злоупотреба на дрога, и бројни досега недефинирани фактори на животната средина, меѓу кои посебно место и припаѓа на ХПВ афекција ¹³.

Сепак, најголемиот успех на секој клиничар е рано откривање на оралната дисплазија или навремена дијагностика на малигните и премалигните лезии. Во светот, вообичаено за таа цел се применуваат скрининг програми кои ги идентифицираат сомнителните лезии кај асимптоматски пациенти или пак примена на специфични дијагностички методи и постапки кои вклучуваат прецизни дијагностички алатки за идентификација на диспластичните промени и рано откриените орални карциноми кај асимптоматски пациенти со одредена орална абнормалност.

Скринингот кај оралниот карцином подразбира откривање орални преканцерозни и канцерогени лезии, обично пред појава на првите симптоми. Голем број утврдени и досега применливи програми за скрининг на различни малигни заболувања покажаа значително намалување на морбидитетот и mortalитетот на пациентите.

Несомнено, тука се вклучуваат: пап-тестот за карцином на грлото на матката и навремената мамографија кога се зборува за карцином на дојка. Сепак, неколку публикации покажаа дека оралниот скрининг на малигномите има ограничена вредност како метод за откривање преканцерозни или рани канцерогени лезии. Во единствената рандомизирана контролирана студија за испитување карцином на дојка спроведена во Индија, која вклучувала над 130.000 лица, авторите заклучиле дека визуелниот преглед бил корисен како метод за скрининг само кај случаи со висок ризик како хронични пушачи или алкохоличари ¹⁴.

Во најголем дел од случаите, класичната клиничка презентација на премалигна или малигна лезија вклучува црвена дамка, бела површина или долготрајно присутен улкус кој има одложен тек на заздравување. Сепак, само мал процент од овие лезии се канцерогени, а клиничкиот наод, за жал, е недоволен за прецизно детерминирање на промените и лезиите кои потенцијално се опасни, а во моментот наликуваат на промени од крајно бенигна природа ¹⁵.

Со оглед на сериозноста на ова заболување најефикасниот начин за намалување на високата смртност од оваа болест е раното откривање на малигномите кое може да го минимизира морбидитетот на болеста и нејзиниот третман. Во спротивно, индивидуата се соочува со сериозно губење на функцијата, дефизност, депресија и слаб квалитет на живот. Сепак, врз основа на програмата SEER на Националниот институт, која се потпира на податоци за постоење орален карцином, потврдува дека во раните фази кај овие пациенти се забележува мала или никаква промена. Ваквите отстапувања на оралната лигавица во изминатите дваесет години тешко се препознаваа од пациентите, но и лекарите ненавремено ги детектирале, оттука бил регистриран подем на оралниот карцином. Затоа за жал, кај повеќето пациенти болеста се дијагностицирала во напредната фаза, кога и прогнозата била прилично сериозна и дискутабилна ¹⁶.

Следствено на сите научни сознанија и клинички искуства, раното откривање претставува императив кај здравствените работници. Тоа опфаќа подигнување на свеста кај пошироката јавност и олеснување на пристапот до оралните здравствени услуги во сите сегменти на здравствениот систем кој е достапен до популацијата.

Како што е нагласено од Американската дентална асоцијација (АДА), идентификувањето на белите и црвените дамки кои покажуваат дисплазија и навременото отстранување пред да се трансформираат во карцином, се покажа како една од најефикасните методи за намалување на инциденцата на морталитетот од ова сериозно заболување чиј епилог многу често е фатален ¹⁷.

Но, не секогаш текот на трансформацијата во малигном има вообичаено очекуван ток. Во најголем број од случаите малигната трансформација на присутната дисплазија, сосема е непредвидлива. Може да се јави со годините, додека лезијата се лекува, со цел да се спречи прогресијата во орален карцином.

Понекогаш, оралните потенцијално малигни лезии (ОПМЛ) имаат сосема друг епилог. Се случува, тие повремено да се повлечат доколку здравствениот работник успеал да го мотивира пациентот да ги намали факторите на ризик, вклучувајќи ги потенцијалните канцерогени фактори, пред се тутунот и алкохолот.

Но овие можни ризик фактори не се единствени. Покрај употребата на тутун и алкохол, како потенцијални можни фактори се споменуваат: ХПВ инфекцијата, имунодефициенцијата, а можеби и генетските промени претставуваат извесни фактори на ризик за појава на ОСЦК меѓу пациентите ¹⁸⁻²². Постојат податоци кои уверуваат дека возраста и поднебјето се можни фактори на ризик. Така, кај поединци постари од 45 години и Афроамериканците регистрирана е зголемена честота на дијагностициран ОСЦК ²³⁻²⁴.

Најчестите орални премалигнални лезии се: леукоплакија, еритроплакија, диспластична леукоплакија, диспластична лихеноидна лезија, орална субмукозна фиброза и лихен планус. Сите поседуваат различна малигна потентност.

Во литературата постојат податоци кои укажуваат на фактот дека оралните премалигнални лезии манифестираат степен на прогресија до 17% во просечно следен период од 7 години по поставување дијагноза.

Највисоката стапка на трансформација се забележува кај лезиите со клинички неправилни или хетерогени еритроплакични или диспластични промени ^{25,26}. Сепак во

клиничката презентација на премалигните или малигните лезии постојат одредени обележја кои го навестуваат ризикот од прогресија на премалигната лезија во карцином.

Во овој контекст примарна е колоритноста на промените (црвена, црвено-бела обоеност), неправилност на промените (ирегуларни граници, недостаток на хомогеност), површина и текстура на ткивото (грануларна, верукозна) и локализација (подот на устата, венстралната или постеролатералната граница на јазикот) ^{27,28}.

Посебен аспект во одредување малигност на промените се однесува на ултраструктурните промени на лезијата. Во нив се вклучува фенотипската промена (присуство и сериозност на дисплазија), нестабилност на ДНК и алелна загуба (особено хромозомските обележја на 3p, 9p и 17p и други молекуларни маркери).

За сите нив се вели дека имаат можност да влијаат врз ризикот за појава и развој на ОСЦК ^{28,29}.

Иако на премалигните лезии многу се посветува внимание сепак нивната малигна трансформација е ретка и треба да напоменеме дека оралниот сквамозелуларен карцином најчесто се јавува како карцином од самиот почеток т.е. не се надоврзува на премалигна лезија.

Едноставно, може да се заклучи дека економските ограничувања се сериозен хендикеп кој условува примена на скринингот само кај лица со висок ризик ³¹⁻³⁵. Симулативниот модел на скрининг кај индивидуи со OPL и OSCC покажа дека околу 18 000 пациенти треба да бидат проследени за да се спаси еден живот ³⁶.

Според достапната литература, оваа стапка е потполно идентично компарирана како онаа која се однесува на карцином на грлото на матката. Затоа се очекува лекарите од примарна здравствена заштита да обезбедат ваков тип скрининг во случај кога постои сомнеж за постоење на орални потенцијално малигни лезии и орален карцином.

Покрај заедничкиот став на експертите во оваа област за задолжителна примена на скрининг програмите, сепак дефинитивните упатства за скрининг на оралниот карцином не се добро утврдени. Најновиот извештај на Task Force за превентивни услуги на САД во 2004 е недоволен доказ за препорачување скрининг кај орален карцином кај пушачи постари од 50 години и оние кај кои е утврден низок ризик за орален карцином ³⁷. При ова истражување работната група регистрирала малку

податоци за сензитивност и специфичност кај заболени со орален карцином (докази во II и III стадиум).

Опортунистички орален скрининг за малигномите е препорачан од канадската Стоматолошка асоцијација и Американската стоматолошка асоцијација. Овие организации нагласуваат дека раното откривање овозможува третман во претходните фази на болеста (доказ во III стадиум на болеста)^{38,39}. Канадската работна група за превентивна здравствена заштита објави дека нема доволно докази да се препорача опортунистичкиот скрининг или да се исклучи скринингот на населението за орален карцином. Решение во оваа состојба сепак е пронајдено. Тие препорачале задолжителни годишни испитувања за пациенти со висок ризик (докази за II стадиум)⁴⁰.

Други автори тврдат дека насоченото клиничко испитување на лица со висок ризик би можело да биде поефикасно од масовниот скрининг на населението со цел да се олесни раното откривање на оралните карциноми⁴¹. Во овој случај се очекуваат поконкретни и попрецизни резултати.

Се чини дека клиничкото испитување обезбедува валиден скрининг, особено кога тој се спроведува од високо обучен здравствен персонал.

Една неодамнешна студија во Индија евидентирала речиси 100 000 пациенти кај кои биле направени орални испитувања. Истовремено тие ги споредиле нивните резултати со оние кај контролната група (слични по големина) кај која не била реализирана скрининг постапката⁴². Меѓу оние кои биле испитани, биле дијагностицирани 205 пациенти со орален карцином, од кои 77 завршиле со смрт. Во контролната група биле дијагностицирани 158 орални карциноми од кои 87 завршиле фатално. Скрининг испитувањата биле, следователно, поврзани со намалена смртност кај високоризичните пациенти.

Сепак самоиспитувањето може да биде наједноставна, најполезна, најбрза и најекономична опција за скрининг на ОПМЛ и ОСЦК е податок кој го промовираат стручните лица во оваа област.

Една студија која го испитувала ефектот од само контрола во усната празнина, објави дека од 247 субјекти кои учествувале во студијата, 6 (2,4%) имале ОСЦК I фаза, а само кај еден поединец била дијагностицирана напредна фаза на болеста⁴³. Стапката

на откривање на оралниот карцином со самоиспитување е позитивно опишана како корисна постапка, која треба широко да се промовира во популацијата.

Населението треба да се поттикнува да ги прави индивидуално овие прегледи многу почесто отколку што тоа би го правел скринингот.

Постои општ консензус дека клиничкиот стадиум на болеста во времето на дијагностицирање е најважниот предиктор за успех од третманот кај пациентите со орален карцином. Моментот на дијагностицирање е пресуден но најчесто правиот момент т.е. раното откривање на карциномот отсуствува во секојдневната пракса. Тоа е резултат на неинформираност на населението, слабата здравствена култура и едукација, нередовни посети на стоматолог и лекар но понекогаш и страв од соочување со лошата дијагноза.



ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

Американската дентална асоцијација (АДА) нагласува дека: "идентификација на бели и црвени промени кои прикажуваат дисплазија и нивно отстранување пред да се трансформираат во канцер клетки, се покажува како еден од најефикасните методи за намалување на инциденцата и морталитетот од орален карцином" ³⁹.

Оралната епителна дисплазија и почетниот орален карцином може да бидат присутни во област на оралната слузница која макроскопски е нормална, како и во состав на оралните потенцијално малигни заболувања, како што се леукоплакија, еритроплакија, субмукозна фиброза и орален лихен планус ⁴³.

Сегашната цел на Меѓународната агенција за истражување на канцерот, Американското канцер здружение и Светската здравствена организација (СЗО) е да се намалат предвидените 15 милиони случаи на карцином за една третина, преку дијагностицирање и лекување на овие видови на карцином во нивните пред-неопластични нивоа. Оралниот карцином е идеален избор за оваа стратегија, бидејќи усната празнина обезбедува лесен пристап за клиничка инспекција, а на развојот на оралниот карцином му претходат видливи мукозни промени ⁴⁴. Сепак, само 40% од оралните канцери се дијагностицирани како локализирана болест, што е иста стапка како и кај ракот на дебелото црево ⁴⁴. Петгодишната стапка на преживување без рецидиви е 80% кај пациенти со орален карцином во фаза I, додека само 20% од пациентите во IV фаза на орален карцином преживуваат по 5 години ⁴⁵⁻⁴⁷. Покрај тоа, раната дијагноза на оралниот карцином

значително го намалува морбидитетот поврзан со третманот и го подобрува целокупното долгорочно преживување^{48, 49}. Пациентите со историја на орални карциноми кои ја преживуваат нивната иницијална болест се изложени на ризик да развијат втор примарен тумор со стапка од 3,7% годишно заради "полето на канцеризација"; една четвртина од сите смртни случаи поврзани со оралните карциноми се предизвикани од вториот примарен тумор⁸, а околу 19% се изложени на ризик од развој на локален рецидив⁵⁰. Затоа, се препорачува рутински распоред за следење за промовирање на раното откривање на нови лезии.

Податоците покажуваат дека дијагнозата на оралниот сквамозноклеточен карцином во раната фаза на болеста овозможува помалку агресивен третман, го подобрува квалитетот на животот на пациентите и ја подобрува целокупната 5-годишна стапка на преживување во споредба со ОСЦК дијагностицирани во доцните фази⁵¹.

Иако основниот преглед за рано откривање на оралниот карцином бара само 90 секунди визуелен и тактилен преглед, мал број лекари а особено стоматолози ги спроведуваат овие испитувања⁵². Истражувањата покажаа дека стоматолозите и другите здравствени работници имаат потреба од системски едукативни надградувања за превенцијата на оралниот карцином и негово рано откривање⁵³. Клиничарите можат да ја зголемат стапката на преживување ако лезијата е откриена во рана фаза или ако прекурзорната лезија – дисплазија е откриена и третирана пред малигната прогресија⁵⁴. Скринингот за болеста има прецизна дефиниција и подразбира тековна, структурирана интервенција за здравствена заштита дизајнирана за откривање на болеста во асимптомна фаза кога нејзиниот природен тек може лесно да се прекине ако не се излечи, или поточно кажано: *"примена на тест или тестови за лица кои очигледно се без знаци на болест, со цел да се селектираат оние кои веројатно имаат болест од оние кои веројатно ја немаат"*⁵⁵. Важен фактор е тоа што скринингот вклучува проверка за присуство на болест кај лице кое е без симптоми.

И покрај општата достапност на усната шуплина за време на клиничкиот преглед, многу малигноми не се дијагностицираат до доцните фази на болеста. Со цел да се спречи малигната трансформација на овие прекурзорни лезии, беа развиени повеќе техники за

скрининг и детекција за да се одговори на овој проблем. Раното откривање на ракот е од критично значење бидејќи стапките на преживување значително се подобруваат кога оралната лезија е идентификувана во рана фаза ⁵¹. Пристапите за скрининг и откривање на малигни и потенцијално малигни состојби имаат потенцијал драстично да го сменат текот на болеста во усната шуплина, но сè уште неможат ефективно да го намалат севкупниот морбидитет и морталитет на оралниот карцином.

Конвенционалниот орален преглед (КОП), користејќи нормална (блескава) светлина, долго време претставува стандарден метод за скрининг на оралниот епител. Конвенционалниот визуелен скрининг за карцином на некои анатомски локации може да бидат многу успешни. На пример, визуелната инспекција на лезиите на кожата може да биде ефикасен метод за скрининг за меланом, со сензитивност и специфичност до 98% ⁵⁶, ⁵⁷. Меѓутоа, додека КОП традиционално е основа за скрининг на оралниот карцином со децении, неговата ефикасност останува контроверзна. Голем број публикации сугерираат дека КОП може да има ограничена вредност како метод за откривање на преканцерозни или рани канцерозни лезии ⁵⁸⁻⁶⁰. Спротивно на тоа, други студии објавуваат релативно висок степен на сензитивност, специфичност и позитивна предиктивна вредност на КОП. Во еден неодамнешен систематски преглед ³⁶ само пет други студии ја утврдиле сензитивноста и специфичноста на оралното испитување ^{33, 61-64}. Четири биле спроведени во земјите во развој, каде прегледот го изведувале здравствените помошници, а една била спроведена во Јапонија, користејќи општи стоматолози. Во овие студии, најниска специфичност била 0,75 ⁶¹, но сите други студии имале вредности над 0,94. Сензитивноста се движела од 0,60 до 0,97. Мета анализата на овие податоци покажала општа сензитивност од 0,85 (95% CI 0,73, 0,92) и специфичност од 0,97 (95% CI 0,93, 0,98), што укажува на задоволителна ефикасност на испитувањето за орален преглед ³⁶.

Бидејќи смртноста како резултат на болест е златниот стандарден исход за ефикасност, Кијан и сор., заклучуваат дека не постојат докази за поддршка или отфрлање на користење на визуелното испитување како метод за скрининг за орален карцином ⁶⁵. Постоело мислење дека првите извештаи за подобро преживување може да се должат на временските дилеми. Подоцна, Керала групата ги објавува своите 9 годишни резултати

во кои иако не било нотирано зголемување на преживувањето за целокупната популација, значително зголемување на преживувањето било забележано кај мажи со високо ризични навики, како што е употребата на тутун¹⁴. Ова бил првиот јасен доказ за поддршка на ефикасноста на скрининг програмата за оралниот карцином, мерена со намалена смртност. Тоа ги поттикнало и останатите истражувачи да апелираат за поширока употреба на оралните скрининг мерки ширум светот⁶⁶. Неодамнешните студии користејќи симулативни модели покажаа дека опортунистичкиот високоризичен скрининг во стоматолошката пракса може да биде изводлив и економичен (ефективен)^{67,68}. Меѓутоа, проблемот е што само мал процент на преканцерозите како што се леукоплакиите се прогресивни или стануваат малигни, а КОП не може да ги разграничи овие лезии и останатите бенигни лезии. Понатаму, додека КОП може да открие голем број на клинички лезии и мал процент од тие може да покажат хистолошки карактеристики на премалигнитет, неодамнешните податоци сугерираат дека некои преканцерозни лезии може да се присутни во слузницата која само на конвенционален орален преглед изгледа клинички нормално. Овој концепт е поддржан од наодите на Thomson, која открива дека 9 од 26 испитани пациенти (36%) со ново дијагностициран сквамозен карцином на главата и вратот (HNSCC) имале хистолошки доказ за дисплазија или микроинвазивен канцер при биопсија од клинички нормална слuzница од соодветната, контралатерална анатомска локализација⁶⁹. Од тие причини КОП може да биде корисен при откривањето на некои орални лезии, но тој не ги идентификува сите потенцијално премалигни лезии, ниту пак точно го открива малиот дел од биолошки релевантните лезии кои веројатно ќе прогресираат во карцином⁷⁰.

Downer и сор., систематски ги ревидирале перформансите на визуелниот преглед за откривање на орален карцином³⁶. Во осумте студии прегледани од Downer и сор., вредностите на сензитивност се движат од 60 до 97%, а специфичноста од 75 до 99%. Симулациски модел на скрининг на популацијата за ОПМЛ и ОСЦК покажа дека треба да бидат прегледани приближно 18 000 пациенти за да се спаси еден живот³⁶. Тековниот протокол за откривање на оралните премалигни лезии со конвенционален орален преглед вклучува визуелна инспекција на усната шуплина и тактилен преглед на лимфните јазли на главата и вратот од страна на лекар или стоматолог. Сепак, дури и со

внимателно следење, раните малигни промени може да се превидат со КОП ⁷¹, бидејќи дисплазија може да се најде кај клинички нормална слузница ^{69,72}. Додека неодамнешната мета-анализа укажа на 93% сензитивност за КОП, специфичноста е ниска, само 31%. Поради тоа, КОП не може со сигурност да прави разлика помеѓу бенигните и диспластичните лезии, а тоа најверојатно се должи на фактот дека голем број на бенигни состојби имитираат орални малигнитети ⁷².

Најновите достигнувања во истражувања за оралниот карцином доведоа до развој на потенцијално корисни дијагностички алатки на клиничко и молекуларно ниво за рано откривање на карциномите во усната празнина. Златен стандард за дијагностика на оралниот карцином останува биопсија на ткивото со пато- хистолошка проценка, но оваа техника има потреба од обучени здравствени работници и се смета за инвазивна, болна, скапа и постапка која одзема време ⁷³. Достапните клинички дијагностички алатки за рано откривање на оралниот карцином вклучуваат толониум хлорид или толуидин сина боја, орални CDx четки за биопсија, саливарна дијагностика и поновите оптички имиџинг системи. Опишани се и бројни дополнителни методи и технологии кои особено се корисни за проценка на големи лезии, каде ареата на инволвираност не е јасна и каде можат да бидат зафатени секундарни регии ^{73,74}.

Толониум хлоридот, исто така познат како Толуидинско сино – ТС (toluidin blue) е витална боја која може да ги обои нуклеинските киселини и абнормалните ткива. Со децении се користи како помошно средство за идентификација на мукозни отстапувања на грлото на матката, но исто така и во усната шуплина. Ова средство е ценето и препорачувано од страна на експертите како корисен начин за демаркација на степенот на лезијата пред извршување на ексцизијата. Толониум хлоридот во моментов не е одобрен од страна на FDA за употреба како техника за скрининг на орален карцином во САД, но веќе неколку децении се употребува во другите делови на светот како скрининг тест или дополнително средство за идентификување на клинички окултни лезии кај пациенти чија што орална лигавица може да биде нормална ⁷⁵. Бојата толуидин сино (ТС) се смета за едноставна, евтина и чувствителна помошна алатка за идентификација на раниот OSCC и дисплазии од висок степен ⁷⁶. Кога 1% воден раствор на толуидин сино се аплицира на

сомнителна лезија за 30 секунди, добиената ацидофилна метахроматска нуклеарна дамка помага да се диференцираат областите на карцинома *in situ* или инвазивен карцином од нормалното ткиво. Иако е откриено дека ТС е високо чувствителна и умерено специфична за малигните лезии, таа е далеку помалку сензитивна за премалигни лезии со лажни негативни стапки до 58% ^{77,78}. Толуидин сино, исто така, е докажано дека помага во проценувањето на маргините околу оралниот карцином во времето на ресекција ⁷⁹. Иако толуидин синиот тест е корисен во идентификацијата на оралните канцери, тој не треба да се смета за замена за биопсија, а добивањето на негативен тест не го исклучува присуството на дисплазија или дури и орален карцином.

Едно рандомизирано контролирано испитување на толуидин сино, обезбеди доказ од ниво 1. Апликација на толуидинско сино на местото на промена на ткивото, се препорачува за идентификување на лезии, забрзување на одлуката за извршување биопсија и селекција на местото за биопсија ⁸⁰.

Претпоставени се два механизми за обојување со толуидин сино. Првиот сугерира на пенетрација на бојата директно во јадрото на малигната клетка, која манифестира зголемена синтеза на ДНК. Втората хипотеза вели дека бојата дисперзира низ неправилно поставените туморски клетки. Силно обоените делови наведуваат на диспластични промени, кои зависно од степенот на дисплазија се повеќе или помалку интензивно пребоени. Стручната литература за толуидин сино е прилично обемна, а неодамнешниот систематски преглед ⁸¹ идентификувал 77 публикации. Сепак, само 14 од нив ја проценуваат способноста на бојата да идентификува орални карциноми кои инаку не би биле дијагностицирани со клиничко испитување без помошно средство. За жал, овие студии се со ограничена релевантност за препорака на ова средство како скрининг тест, затоа што ниту една од нив не е рандомизирано контролирано испитување, ниту една не била спроведена во примарната здравствена заштита, а повеќето студии биле серии на случаи од високоризична популација со познати лезии, извршени од специјалисти. Генерално, сензитивноста на ТБ боењето за откривање на орални канцери се движи од 0,78 до 1,00 а специфичноста од 0,31 до 1,00. Само една студија правилно ја проценила употребата на толуидин сино за да открие лезии кои не биле откриени со визуелен преглед

⁸². Onofre и сор., откриваат дека сите карциноми после примена на толуидин сино се бојат позитивно, но само 50% од дисплазиите биле позитивни, но исто така и 35% од бенигните лезии (13 од 37) се обојуваат ⁸³. Вкупната сензитивност на боењето изнесува 72%, специфичноста 65%, позитивна предиктивна вредност 43.5% а негативна предиктивна вредност 88.9%. Тие сметаат дека методата обезбедува информации за маргините на лезиите, ја забрзува одлуката за земање биопсија, селекција на местото за земање на биопсијата и третманот на оралните потенцијално малигни и малигни лезии. Конечно, Martin и сор., обоиле серија на ресекциони примероци за да направат корелација за присуство на боја во хистолошките примероци на карцином или дисплазија ⁸⁴. Сите ткивни примероци со карцином биле позитивни, но само 17 од 40 (42%) од примероците на дисплазија биле позитивни.

Севкупно, толуидин сино се чини дека е соодветно средство при откривање на карциноми, но е позитивен кај само 50% од лезиите со дисплазија. ТБ често ги обојува вообичаените бенигни состојби како што се неспецифичните улцери. Во систематскиот преглед Gray и сор. ⁸¹ заклучуваат дека нема докази дека ТБ е ефикасен како скрининг тест во примарната здравствена заштита. Високата стапка на лажно позитивни боења и ниското ниво на специфичноста кај дисплазиите најверојатно го надминува потенцијалниот бенефит за дополнителна детекција на карцином рак во овој момент. Една неодамнешна публикација покажа дека толуидин сино може да биде корисно во проценката, која клинички евидентната орална лезија е поверојатно да напредува во орален карцином ⁸⁵.

Тестот за ТБ се чини дека е високо сензитивен (97,8% -93,5%), но помалку специфичен (92,9% -73,3%), главно поради високите лажно-позитивни резултати ^{86,87}. Неодамна, молекуларните студии со ТС обоени лезии укажаа на поврзаност помеѓу карциномот и губење на хетерозиготноста на 3p и 17p, додека дисплазијата резултирала со губење на хетерозиготноста при 9p. Присуството на губење на хетерозиготноста, исто така, е забележано со висока фреквенција на ТБ обоени лезии без или со низок степен на дисплазија ⁸⁸.

Zhang и сор., го откриваат односот помеѓу ТС боењето и генетските промени поврзани со прогресија на потенцијално малигните лезии во орален карцином - како што

се алелна загуба или губење на хетерозиготноста (LOH) ⁸⁵. Освен тоа, авторите во лонгитудиналната студија демонстрираа дека толумидин сино идентификува губење на хетерозиготност и позитивни лезии кои последователно напредувале кон орален карцином.

Patton, Epstein, и Kerr даваат детален преглед на литературата и мета анализа на испитувањето за проценка на PPV, сензитивноста и специфичноста на техниката ⁸⁶. Во прегледот на Patton, кога биле исклучени студиите со низок квалитет, сензитивноста на ТС како дијагностичко дополнение варираше од 38-98% а специфичноста од 9-93%. Позитивните предиктивни вредности (PPV) се движеа од 33-93%. Авторите, со оглед на овие високо варијабилни резултати, заклучуваат дека ТС треба да се користи како дополнително средство кај високо-ризични популации. Покрај тоа, повеќето истражувачи препорачуваат техниката да ја користат само искусни лекари.

FDI Комисијата (комисијата на Светското дентално друштво) во својата изјава во врска со употребата на ТС, истакнува дека иако сензитивноста и специфичноста на овој скрининг тест е адекватна, помалку од 50% од преканцерозните дисплазии покажуваат задршка на бојата. Слична препорака издава и Регионалната комисија за евалуација на West Midlands во Англија ⁸¹.

Lingen и сор., обезбедуваат критичка проценка на овој дијагностички тест ⁷⁰. Авторите заклучуваат дека поддржувачките докази се ретки и дијагностичката предност во однос на стандардната инспекција може да биде ограничена. Тие сметаат дека тестот е корисен како дополнување на клиничкиот преглед, но специфичноста на бојата ТБ е ограничена, бидејќи клетките кои се подложени на инфламаторни промени и бенигна хиперплазија, исто така, можат да ја задржат бојата што води кон лажно-позитивни резултати. Општо земено, сензитивноста на боењето со ТС се движи од 0,78 до 1,00, а специфичноста се движи од 0,31 до 1,00. Дали овие техники помагаат да се дефинираат преканцерозните лезии кои не можат да се видат со блескава светлина, останува нејасно, но, доколку е така, техниката може да биде корисна.

Ставовите пак на други автори се спротивставени. Тие сметаат дека при евалуација на потенцијално малигни орални лезии, боењето со ТС може да обезбеди подобра

демаркација на маргините на лезиите, може да го селектира местото за биопсија и може да биде корисно при идентификација и визуелизација на лезиите кај високоризични пациенти ⁸⁹.

Забележано е дека Epstein и сор. ⁸⁰, чија студија била единствената која користела боење со ТС за испитување на орална мукоза кај високоризични пациенти, пријавила најниска специфичност и NPV, додека пак Zhang и сор. ⁸⁵ известуваат за најниска сензитивност и PPV. Истражувачите во три студии, исто така, објавија податоци за точност за визуелниот преглед, во споредба со хистопатолошките наоди ^{80,90,91}. Иако зголемената детекција на дисплазиите што произлегуваат од примената на ТС е варијабилна, откривањето на Ca in situ и инвазивниот ОСЦК е значително подобро во две од овие студии ^{80,91}, но не и кај третата ⁹⁰. Проспективната лонгитудинална студија ⁸⁵ покажа дека мукозните лезии ја задржуваат бојата ТС на почетокот, па дури и оние кои се категоризирани како лезии со помал ризик (т.е. оние со мала или без никаква дисплазија при микроскопско испитување), биле силно предиктивни за ризик од малигна трансформација.

Во текот на изминатите неколку децении, оралната цитологија е повторно во фокусот на научното истражување. Сепак, за разлика од земањето примероци на клетки од грлото на матката, анализата на површинските епителни клетки на усната шуплина и орофаринкс со стандардна ексфолијативна цитологија досега се покажа несигурна. Обликот на усната празнина го оневозможува испитувањето на целосната мукозна површина. Без минимална инвазивност, не беше можно да се пристапи до подлабоките клеточни слоеви на усната шуплина со конвенционална ексфолијативна цитологија ⁹².

Употребата на Оралната CDx brush биопсијата со компјутерски асистирани анализа има широка клиничка примена при проценка на површински абнормалности на оралната и орофарингеалната мукоза, кои вклучуваат леукоплакија; еритроплакија; и мешани црвени и бели лезии, како што е еритролеукоплакија. Раната проценка на таквите лезии, што доведува до брза идентификација на диспластична преинвазивна или рана минимално инвазивна болест, е од централно значење за елиминирање на овие лезии; дополнително, ја елиминира секоја несигурност во врска со идентитетот или карактеристиките на

површината на орална мукозна абнормалност која може да претставува диспластична или малигна лезија ⁹³.

Оралната CDx brush биопсија го користи концептот на ексфолијативна цитологија за да обезбеди цитолошка евалуација на клеточни диспластични промени. Оваа техника обезбедува комплетен трансепителен примерок, додека четката навлегува длабоко во епителните слоеви. Овие клеточни примероци потоа може да се анализираат со различни уникатни дијагностички мерки, вклучувајќи цитоморфометрија, ДНК цитометрија и имуноцитохемиска анализа ^{43,94}. Brush биопсијата (CDx Laboratories, Suffren, NY) била воведена како потенцијална алатка за откривање на случаи со карциноми во 1999 година.

Таа е наменета за испитување на клинички лезии кои инаку не би биле подложени на биопсија, бидејќи нивото на сомневање за карцином, врз основа на клиничките карактеристики, бил низок ⁹⁵⁻⁹⁷. Точноста на brush тестот е предмет на многу објавени студии. Во секоја студија во која орална лезија истовремено е испитувана со brush тестот и со стандардна биопсија, се покажало дека овој тест има чувствителност и специфичност над 90% ^{98,99}. Овие студии покажуваат дека brush биопсијата има висока сензитивност во елиминирање на присуството на дисплазија и карцином што го прави практичен начин за проценка на лезиите без очигледна етиологија, како што е инфекцијата по траума. Што е најважно, хистолошката дијагноза на дисплазија не може лесно да се репродуцира помеѓу оралните патолози и затоа несоодветен резултат помеѓу brush биопсијата и стандардната биопсија всушност може да претставува лажно негативен или лажно позитивен резултат биопсијата.

Затоа, кога се прават споредби помеѓу било кои 2 техники на биопсија (т.е. brush биопсија наспроти скапел биопсија или скапел биопсија со скапел биопсија), единствените валидни студии се оние кои ги споредуваат резултатите од двете биопсии извршени во исто време и од истиот дел од сомнителната лезија. За да се помогне да се локализира оптималното место за brush биопсија, Gupta и соp., комбинирале конвенционална орална brush биопсија со примена на толуидин сино за да ги локализираат сомнителните мукозни области ⁹⁹. Неколку студии покажаа охрабрувачки резултати со brush цитологијата за проценка на оралните преканцерозни лезии. Scuibba и соp., во

својата проспективна, мултицентрична студија ја утврдуваат сензитивноста и специфичноста на OralCDx brush биопсијата во детекција на преканцерозните и канцерозни лезии на оралната мукоза, каде речиси кај 5% од клиничките бенигните оралните мукозни лезии, со употреба на оваа техника, а подоцна и со употреба на скапел биопсијата беа потврдени диспластични епителни промени или инвазивен канцер ¹⁰⁰. Иако авторите сметаат дека оваа техника е корисна дијагностичка алатка за испитување на потенцијален орален карцином или преканцерозни лезии, главната слабост на студијата, сепак, е дека златниот стандард - стандардната биопсија, не била извршена кај повеќето пациенти од класа II (пациенти со несуспектни лезии), што претставува кардинално правило за проценка на дијагностичките тестови ⁹⁹.

Poate и сор., извршиле ретроспективна студија на 112 пациенти кои биле упатени на Клиниката за орална медицина поради клинички наоди кои сугерирале малигнитет ¹⁰¹. Поради тоа, статистичките податоци пријавени за сензитивност, специфичност и позитивна предиктивна вредност се пристрасни. Сепак, оваа студија страда го има истиот недостиг како и студијата на Sciubba и сор., имено, неможноста да се изврши стандардна биопсија кај сите пациенти ¹⁰⁰. Како последица на тоа, невозможно е да се пресмета сензитивноста и специфичноста во оваа студија.

Во студијата на Scheifele и сор., 96 орални лезии од 80 пациенти со клиничка дијагноза на орална леукоплакија (OL, n = 49), орален лихен планус (OLP, n = 18) или сквамозен карцином (OSSC, n = 13) биле подложени на биопсија во рок од еден месец после brush биопсијата ¹⁰². Под претпоставка дека случаите се всушност последователни, добиени се валидни проценки на сензитивноста и специфичноста, кои се 92,3% и 94,3%, соодветно. Јачината на оваа студија е дека е единствената студија во која биле изведени и brush биопсија и стандардна биопсија кај сите субјекти. Тоа е исто така единствената која го пријавува соодносот за веројатност, кој е корисна сумарна статистика за дијагностичките тестови.

Голем број од авторите се согласни, кога е пријавен абнормален CDx резултат (атипичен или позитивен), клиничарот мора да го упати пациентот за земање биопсија од лезијата, бидејќи brush цитологијата не обезбедува дефинитивна дијагноза ^{100,103,104}.

Резултатите се пријавуваат како "позитивни" или "атипични" кога клеточната морфологија е многу сомнителна за епителна дисплазија или карцином или кога абнормалните епителни промени се со неизвесна дијагностичка важност¹⁰⁵. Постои контроверзност во однос на употребата на Oral CDx методот, бидејќи некои студии укажуваат на висока лажно-позитивна и висока лажно-негативна стапка¹⁰⁴. Постојат повеќе примери во литературата со суштински спротивни наоди; затоа, повеќето студии укажуваат на понатамошно испитување на методот. Од тие причини истражувачите сугерираат дека стандардната биопсија сеуште е индицирана ако постои клиничко сомневање за појава на лезија, без оглед на резултатот на Оралниот CDx^{95,97}.

Mehrotra и сор., ја истакнуваат вредноста на технологијата на brush биопсија за проценка на оралните лезии без помош на компјутерски-асистирана технологија, иако тие пријавија гранично пониска сензитивност и специфичност. Акцентот беше да се стави овој вреден пристап во широка употреба во заедниците каде што ресурсите се ограничени, но потребата е висока¹⁰⁶. Неодамна, ефикасноста на оваа техника е нотирана со позитивна предиктивна вредност од 84% и негативна предиктивна вредност од 98% во случаи кои се сметаа за минимално сомнителни¹⁰⁷. Во студија на 70 случаи на клинички сомнителни орални мукозни лезии без докази за малигнитет, brush биопсијата обезбеди сензитивност од 55% и соодветна специфичност од 100%¹⁰⁸.

Подоцнежните студии со употреба на аналитички алатки, вклучувајќи мас спектрометрија во комбинација со примероци од brush биопсија за разграничување на здраво и малигно орално мукозното ткиво и помеѓу канцер и други не-канцерогени лезии покажаа целосна точност од 96,5%¹⁰⁹.

Сепак, иако ексфолијативната цитологија и техника на brush биопсија се корисни за утврдување на поконкретна дијагноза на веќе видливи лезии, тие немаат значење при откривање на мукозни промени кои не се лесно видливи со голо око^{100,104}. Напредокот во развојот на автоматски цитоморфометриските методи комбинирани со генетско и протеомичко профилирање можат да ги обезбедат потребните алатки за да ги насочат скрининг - стратегиите во иднина^{102,110}.

Во прилог на побрза и посигурна дијагноза, развиени се голем број системи за детекција базирани на светлина, кои би овозможиле идентификација на оралните потенцијално малигни лезии (ОПМЛ) и оралниот карцином во најраната фаза. Мукозните ткива кои подлежат на абнормални метаболни или структурни промени имаат различни профили на апсорпција и рефлексија кога се изложени на различни форми на извори на светлина, што овозможува идентификација на орални мукозни ирегуларности ¹¹¹. Постојат повеќе производи на светскиот пазар кои користат системи на база на рефлексија при скринингот за орален карцином. Такви се ViziLite System, MicroLux DL, Orascopic DK и др. Техниките базирани на светлина, вклучувајќи хемилуминесценција и автофлуоресцентно снимање, работат на претпоставката дека неопластичните и пренеопластични ткива кои претрпеле абнормални метаболни или структурни промените имаат различни својства на апсорпција и рефлексија кога се изложени на специфични бранови должини на светлина. ViziLite кој работи на принцип на хемилуминесценција е неинвазивна скрининг алатка чија цел е за да им помогне на стоматолозите во идентификацијата на сомнителните површни орални лезии. Овој уред за снимање е одобрен за употреба во САД од страна на FDA во ноември 2001 година. ViziLite емитува светлина од 430, 540 и 580 nm бранова должина која нормалниот епител ја апсорбира и се гледа како темна површина, додека хиперкератинизираниите или диспластичните лезии се гледаат бели. Разликата во бојата може да биде поврзана со променетата дебелина на епителот или со поголема густина на нуклеарна содржина и митохондријалниот матрикс кој преферирачки ја рефлектира светлината во патолошките ткива ^{88,112}. Зголемената нуклеарна густина што резултира со зголемувањето на соодносот помеѓу јадрото и цитоплазмата го одразуваат зголемување на пролиферативната стапка и метаболната активност на преканцерозните клетки. Присуството на "ацетобела" лезија по едноминутно плакнење со 1% раствор на оцетна киселина се смета за позитивен наод, додека отсуството на такви наоди се смета за негативно ¹¹³.

Поголемиот дел од студиите кои ја испитуваат хемилуминесценција ги проценуваат субјективните перцепции за карактеристиките на интраоралните лезии, вклучувајќи ја осветленоста, остријата и текстурата наспроти рутинскиот клинички преглед. Бидејќи овие

параметри се многу субјективни, не изненадува фактот дека резултатите се контрадикторни ^{78,86}.

Почетните студии спроведени од Epstein и сор. ¹¹⁴ и Kerr и сор. ¹¹² покажуваат дека ViziLite потенцијално може да помогне во откривањето на оралните премалигнални лезии со подобрување на осветленоста и острината, но хемилуминисценцијата не успеала да ги направи повидливи црвените лезии. Спротивно пак, други студии објавија дека ViziLite не помага во идентификацијата на оралните лезии ¹¹⁵⁻¹¹⁷. Двете студии заклучиле дека испитувањето со ViziLite не ја променило претходно поставената дијагноза. Авторите забележале дека испитувањето со ViziLite не може да врши разграничување помеѓу бенигни или воспалителни и премалигни или малигни орални лезии ^{115,116}.

Во една студија спроведена од Oh и Laskin, 100 пациенти биле испитани со ViziLite, после конвенционален преглед ¹¹⁷. Резултатите покажале дека сите лезии биле откриени за време на стандардниот орален преглед, и не биле откриени дополнителни лезии од страна на ViziLite. Така, останува важна потреба за алтернативни дијагностички методи кои можат да ја подобрат визуелизацијата на оралните лезии и особено да помогнат во разграничување на бенигните и премалигните лезии.

Поголема група автори укажуваат дека недоволен број докази ја поддржуваат употребата на хемилуминесцентни светлосни модалитети при откривањето на патолошки променетото ткиво, кое не би било идентификувано само со користење на конвенционално светло. Сепак, потенцијалната способност да се идентификуваат отстапувањата кои не се видливи при клиничкото испитување може да ја поддржи употребата на хемилуминесцентната светлина како скрининг техника ^{43,78,86,117,118}.

Rethman и сор., ги проценуваат комерцијално достапните уреди за визуелизација базирани на рефракција на ткивата (ViziLite и ViziLite Plus) и автофлуоресценција (VELscope), и укажуваат дека нема доволно докази дека тие го подобруваат откривањето на PMD над онаа на конвенционален визуелен и тактилен преглед, и нивната употреба може да биде поврзана со зголемен ризик од лажно-позитивни наоди ¹¹⁹.

Во клиничката студија на Huber и сор., која вклучувала 150 пациенти, ViziLite се користел за испитување на различни орални лезии, вклучувајќи линеа алба, леукоедем,

влакнест јазик, леукоплакија, трауматска улцера, фибром, амалгамска тетоважа и фрикциона кератоза ⁸⁸. Силната страна на студијата е претставена преку големината на примерокот, со што се обезбеди увид во инциденцата на откривање на лезии со помош на уредот додека како недостаток се вклучуваат ограничениот број на случаи со хистопатолошка верификација. Оттука, сензитивноста, специфичноста или позитивната предиктивна вредност на уредот не може точно да се процени во отсуство на споредба со златниот стандарден дијагностички тест – биопсијата, што сугерира дека иако чувствителноста на ViziLite може да биде релативно висока, неговата специфичност и PPV веројатно се ниски.

Неодамна беше објавена мултицентрична ViziLite студија со 134 пациенти ¹¹⁴. Авторите заклучиле дека испитувањето на ViziLite не го подобрило откривањето на лезиите во споредба со КОП. Како и во претходните извештаи, на оваа студија и недостасуваше стандардизирана корелација на клиничките наоди со хистопатолошката дијагноза на лезиите.

Во друга слична дескриптивна студија, вкупно 501 пациенти на возраст над 40 години со позитивна историја на употреба на тутун биле испитувани со КОП, по што следела хемилуминисценција со ViziLite ¹¹². Како и во претходната студија, описната споредба на карактеристиките на лезиите укажува дека само острината била значително подобрена со техника на ViziLite. Уште еднаш, голема слабост на оваа студија е недостатокот на дијагностичка корелација со наодите на биопсија.

Испитувањето на ViziLite беше искористено во една студија на 55 пациенти кои биле упатени на специјалист за орална медицина за проценка на оралните бели лезии ¹²⁰. Авторите заклучиле дека техниката имала мала корист за откривање на лезии (како скрининг уред) или дијагноза (како уред за дијагностика) споредено со КОП.

Спроведената мултицентрична студија која ги проценувала пациентите после визуелен преглед со хемилуминисценција и толуидин сино, покажала дека задржувањето на бојата ја намалува лажно-позитивната стапка за 55% додека ја одржува 100% негативната предиктивна вредност ¹²¹.

Употребата на автофлуоресценција како дијагностичка алатка за откривање на канцер за прв пат е опишана уште во 1924 година и беше под интензивна евалуација уште 30 години¹¹¹. Автофлуоресценцијата користи природни флуорофори кои се наоѓаат во епителот и субмукозата (на пример, колаген, еластин) кои се зрачени со различни бранови должини на екситација. Кога се осветлуваат со бранови должини помеѓу 375 и 440 nm, флуорофорите покажуваат флуоресценција во зелениот спектрален опсег и нормалната, непроменета мукоза емитува бледо зелена автофлуоресценција кога се гледа преку селективен, тесен опсег. Поради интензивната светлина што се користи за екситација на флуорофорите потребна е соодветна филтрација, без која би било невозможно да се визуелизира бледиот и тесниот автофлуоресцентен сигнал. Сепак, диспластичните ткива губат флуоресцентна емисиона моќ поради нарушување на дистрибуцијата на флуорофорите и се гледаат потемни во споредба со околното здраво ткиво⁷⁸. Главната критика на автофлуоресценцијата кај дијагностиката на канцерот е недостатокот на способност за разграничување на лезии со висок ризик од лезии со низок ризик¹¹¹.

Користењето на концептот на ткивна автофлуоресценција за дијагностицирање на диспластичните лезии во усната шуплина зависи од промените во структурата и метаболизмот на епителот и субепителната строма при интеракција со светлина. Поточно, се верува дека губењето на автофлуоресценцијата кај диспластичните и канцерогените ткива се рефлектира во сложена мешавина на промени во внатрешната дистрибуција на флуорофорите во ткивата, поради ремоделирање на ткивата, како што е распаѓањето на колагениот матрикс и составот на еластинот, како и промените во метаболизмот, како што е намалувањето во концентрацијата на флавин аденин динуклеотид (FAD) и зголемување на редукционата форма на никотинамид аденин динуклеотид поврзан (NADP) со прогресија на болеста^{122,123,124}. Понатаму, овие структурни промени во ткивната морфологија се поврзани со промени не само во епителот, туку и во ламина проприја, на пример, задебелување на епителот, нуклеарен хиперхроматизам и зголемен клеточен/нуклеарен плеоморфизам или зголемена микроваскуларност. Последните промени доведуваат до зголемена апсорпција и/или расејување на светлината, што пак го намалува и модифицира сигналот за автофлуоресценција што може да се детектира¹²⁵.

Уште во 2006 година, Светската дентална асоцијација (FDA), го категоризира VELscope системот како дополнување на стандардната визуелна инспекција на оралната слузокожа и помош во детекција на мукозните аберации, како и олеснување во детекција на точната локализација на маргините до каде ќе се изведе биопсијата или хируршка ресекција.

Роџ и сор., презентираат мала студија од 20 испитаници врз кои подоцна изведуваат хируршка ексцизија, и известуваат за загуба на флуоресценција кај 19 од 20 потврдени туморозни ткивни промени, екстендирајќи се дури и до 25 mm од видливите граници на туморот ¹²⁶.

Користејќи го овој уред, Lane и сор., ја истражуваат способноста на VELscope да ги идентификува преканцерозните или канцерозни лезии ¹²⁷. Студијата се состоела од 44 пациенти со историја на орална дисплазија или HNSCC. По извршувањето на конвенционалниот орален преглед (КОП), усната празнина била прегледана со користење на VELscope за да се идентификуваат областите кои покажале загуба на автофлуоресценција. Покрај овие испитувања, направени се и биопсии на лезиите. Користејќи ја хистологијата како златен стандард, VELscope системот покажа 98% сензитивност и 100% специфичност за разграничување на дисплазија и канцер од нормалната орална слузница. Јачината на оваа студија е во фактот дека системот директно се споредува со соодветниот златен стандард - биопсијата, а исто така е охрабрувачки и високиот степен на сензитивност и специфичност. Но, кај студијата се евидентирани и некои недостатоци, а тоа се големината на примерокот ($n = 44$) која е релативно мала, а што поголемиот дел од лезиите вклучени во студијата се чини дека се класа I - сомнителни лезии. Испитувањата со VELscope системот ги продолжуваат истражувачи од истиот центар при што во втората студија објавуваат три неконсекутивни репрезентативни случаи во кои клинички невидливи лезии биле идентификувани со употреба на VELscope ¹²⁸. Секој од случаите покажал потенцијално поинаква употреба на оваа технологија врз основа на клиничкиот наод: почетна дијагноза на дисплазија, рекурентен канцер, и втор примарен тумор. Главната јачина на овој прелиминарен извештај е демонстрацијата дека VELscope може да биде способен да ги идентификува лезиите кои не можат да се видат со нормална (блескава) светлина. Следната студија ја етаблира улогата на флуоресцентната

визуелизација за откривање на хируршки граници на оралниот карцином кога се користи во операционата сала ¹²⁶. Резултатите од оваа мала студија сугерираат дека VELscope може да биде корисен како вистински модел за скрининг на орален карцином со идентификување на лезии кои не може да се видат само од КОП. Добиените вредности за сензитивност (Se) се движат во границите од 98-100%, за специфичност (Sp) од 78 и 100%, PPV од 100 и 66%, а NPV од 86 и 100%.

Две неодамнешни студии објавуваат спротивни резултати во однос на употребата на овој систем за рана дијагноза. Студијата на Camiles и сор., укажува дека испитувањето со VELscope не обезбедува дефинитивна дијагноза во врска со присуството на епителната дисплазија и дека губењето на автофлуоресценцијата не е корисно во дијагностицирањето на епителната дисплазија без релевантно клиничко толкување ¹²⁹.

Додека другата студија пак, ја афирмира улогата на VELscope како корисен метод во потврдувањето на присуството на оралните леукоплакии и еритроплакија и други орални нарушувања на мукозата, но уредот не беше во можност да ги разграничи високоризичните лезии од оние со низок ризик ¹¹¹.

Резултатите од истражувањата на Sawan и Mashlah ја подржуваат примената на VELscope во клиничката инвестиација, кои откриле дека во диференцијацијата помеѓу нормалната и патолошки изменетата слузница, вредноста на сензитивност била 98%, а вредноста на специфичност 92% ¹³⁰. Слични резултати бележат Eriksson и сор., кои направиле компаративна студија помеѓу различни начини на рано откривање на интраоралните лезии со употреба на ViziLite со OralCDx браш биопсија и VELscope; тие презентираат сензитивност од 98 - 100% и специфичност од 94-100% ¹³¹.

Во 2011 година, Matsomoto испитувајќи 74 случаи, открива дека 37 од нив биле малигни, а останатите бенигни промени на оралната лигавица ¹³². Тој потенцира дека VELscope е од сериозна помош во откривањето на ткивните промените во усната празнина.

Farah и сор., испитувале 44 случаи хистолошки и клинички со VELscope, добиле сензитивност од 100% и специфичност од 96% ¹³³.

Ardore и сор., не го поддржуваат користењето на VELscope кај суспектни лезии, бидејќи сензитивноста била 87,1%, а специфичноста 20% ¹³⁴. Ова опаѓање може да се должи

на тоа што не се комбинира клиничкиот преглед со употребата на VELscope. Тие забележале губење на флуоресцентниот ефект кај бенигните лезии како варикозитети на јазикот и пигментацијата.

Само неколку испитувања ја забележаа способноста за автофлуоресценција како дијагностичка алатка кај клинички неизменета мукоза, но резултатите се занемарливи поради многу ниски броеви на случаи^{92,133,135,136}.

Спротивно на тоа, постојат неколку студии, кои ја нагласуваат способноста на уредот да ги идентификува областите на дисплазија^{127,137}. Сè на сè, неодамнешните студии од Awan и сор. и Rana и сор.^{111,138} покажале компарабилни податоци кај високоризичните групи со висока сензитивност и релативно ниска специфичност. Овој недостаток на специфичност останува постојан проблем во клиничката рутинска употреба и исто така е еден од главните недостатоци на сите студии^{78,86,111, 126}.

Paulis пак сугерира дека VELscope им обезбедува насоки на стоматолошките професионалци за откривање на оралниот карцином, забележувајќи дека иако може да даде некои лажно-позитивни наоди, тоа е уред за скрининг, а не конечна дијагностичка алатка¹³⁹. Сепак, иако се забележани ветувачки резултати, повеќето од овие студии се ограничени на мал број пациенти во високо превалентна популација. Неколку неодамнешни студии^{78,86,105,131,140-143} ја истакнаа потребата од дополнителни истражувања за да се оцени ефикасноста на VELscope во општата пракса. Balevi истакнува дека потенцијалот за лажни позитивни резултати може да предизвика непотребно стрес и страв кај пациентите и да го зголеми морбидитетот и трошоците за пациентите кога се користи во ординациите од општа пракса како рутинска скрининг алатка¹⁴⁴.

Дијагностичката точност на VELscope при откривање на дисплазија и ОСЦК сеопфатно е испитувана во повеќе специјалистички референтни центри^{92,111,133,138,145,146}, со пријавена сензитивност која се движи од 30 до 100%. И покрај големиот опсег на добиените податоци, некои студии забележуваат дека VELscope системот помогнал да се откријат диспластични лезии пропуштени со конвенционалниот орален преглед^{133, 146}. Поради овие причини, VELscope се чини дека е важна алатка за следење на пациенти со историја на карциноми на главата и вратот. Ставот на Американската академија на лекари по семејна

медицина (American Academy of Family Physicians), а во 2013 година поддржан и од американската организација The U.S. Preventive Services Task Force (USPSTF), е дека научната база е инсуфициентна со релевантни и за во пракса применливи докази за одредување на балансот помеѓу потенцијалната штета т.е. корист од скринингот кај лица без никакви симптоми ^{73,147}. Американското канцер здружение (American Cancer Society) препорачува дека секое лице над 20 годишна возраст, при рутинските периодични систематски прегледи, треба да подлегне и на преглед за орален карцином како составен дел од истите ¹⁴⁸.



ХИПОТЕЗА

Клиничката инвестиција со инспекција и палпација е инсуфициентна во дијагнозата на оралните малигни и премалигни лезии. Примената на дополнителни современи дијагностички процедури е неопходна и значително ќе ја подобри раната дијагноза на премалигните и малигни лезии на оралната слузокожа.

4

ЦЕЛ НА
ТРУДОТ

Земајќи ги во предвид бројните литературни податоци во кои се елаборирани позитивните и негативни искуства во примена на дополнителни современи дијагностички процедури во детекција на оралните малигни и премалигни лезии, ги поставиме основните цели на ова истражување:

- Да ја одредиме точноста на клиничката инвестигација со инспекција и палпација во детекцијата на премалигни и малигни лезии
- Да ја утврдиме точноста, сензитивноста (Se) и специфичноста (Sp) на тестот со толуидин сино во детекција на премалигни и почетни малигни лезии во споредба со златниот стандард хируршка биопсија
- Да ја утврдиме точноста, сензитивноста (Se) и специфичноста (Sp) на тестот со клеточна ексфолијативна цитологија во детекција на премалигни и почетни малигни лезии во споредба со златниот стандард хируршка биопсија
- Да ја утврдиме точноста, сензитивноста (Se) и специфичноста (Sp) на Velscope скрининг методот во детекција на премалигни и почетни малигни лезии во споредба со златниот стандард хируршка биопсија.
- Да ја процениме ефикасноста во дијагностицирањето на премалигните и малигни лезии кога клиничкиот преглед се комбинира со една од наведените скрининг методи.



МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

5.1. Материјал

За реализација на поставените цели во истражувањето беа вклучени вкупно 120 испитаници поделени во две групи: испитувана и контролна група. Испитуваната група ја сочинуваа 90 пациенти со дијагностицирани малигни, потенцијални малигни и суспектно малигни лезии.

Испитуваната група беше поделена на три подгрупи. Првата подгрупа ја оформија 30 пациенти со клинички потенцијално малигни орални лезии. Триесет пациенти со клинички суспектни орални лезии за малигнитет беа вклучени во втората подгрупа испитаници, додека пак третата подгрупа испитаници ја оформија 30 пациенти со претходна историја на малигно орално заболување.

Контролната група ја сочинуваа 30 пациенти со здрава и интактна орална слузокожа.

Сите избрани пациенти се проследени според дијагностички протокол на заболувањето (American Joint Commission on Cancer), со претходна предоперативна подготовка, дијагностика, хируршка ексцизија и постоперативно клиничко следење.

Изборот на пациентите во испитуваната и контролната група беше направен според одредени критериуми за вклучување и исклучување од студијата.

I - ИСПИТУВАНА ГРУПА - КРИТЕРИУМИ

Критериуми за вклучување:

- Да не примале антибиотска терапија последните два месеци
- Да не биле подложени на пародонтален третман последните два месеци
- Да не биле / или не се подложени на радио терапија или хемотерапија последните три месеци

Критериуми за исклучување:

- Неспособност и неволност за учество во протоколот на студијата
- Гравидитет
- Докажана алергиска реакција на растворот на толудин сино или на некоја од неговите состојки

II - КОНТРОЛНА ГРУПА - КРИТЕРИУМИ

Критериуми за исклучување:

- Присуство на системски заболувања
- Сериозни коморбидитетни состојби кои можат да завршат летално за помалку од една година (пример рецидивирачки канцер)
- Имунодефициентни состојби, реуматоиден артритис или примена на радио терпија или хемотерапија во последните пет години.

Сите испитаници кои се дел од студијата потпишаа формулар за информираност и согласност за доброволно учество во студијата. Кај сите испитаници преку анамнеза, историја на болеста и пополнување прашалник се нотирали добиените информации за нивната возраст, проценка за сопственото орално здравје, видот на хроничната медикаментозна терапија, присуство на заболувања кои не ги исполнуваат критериумите за исклучување.

- Реализација на истражувањето (селекцијата на учесниците од испитуваната група) е спроведена на Универзитетската клиника за максилофацијална хирургија при Универзитетот “Св. Кирил и Методиј” во Скопје и Клиниката за болести на устата и пародонтот при Универзитетскиот стоматолошки клинички центар “Св. Пантелејмон” во Скопје. Во цитираните институции е реализиран клиничкиот преглед и спроведени се дијагностичките постапки (витално боење со Толуидин сино, “brush” биопсија и примена на Velscope имиџинг систем) кај групата испитаници од сите три подгрупи.
- Селекцијата на учесниците кои припаѓаат на контролната група е реализирана во Центарот за дентално здравје – ЕТЕРНАДЕНТ во Скопје.
- Патохистолошката анализа на примероците од испитуваната група се изведуваше на Институтот за патолошка анатомија на Медицинскиот факултет при Универзитетот “Св. Кирил и Методиј” во Скопје.

5.2. Метод

Во понатамошниот тек кај сите учесници во студијата беа спроведени следниве клинички и параклинички испитувања:

Клинички испитувања

- анамнестички податоци, клинички преглед и анализа на дигитални ортопантомографски рентген снимки
- клиничка проценка на состојбата на оралниот епител преку стандардизирани постапки (конвенционални орални испитувања (КОП) – екстраорална и интраорална егзаминација со инспекција и палпација)
- клиничка проценка на состојбата на оралниот епител преку витално боење на ткивото со употреба на раствор на толониум хлорид - Толуидин сино.
- клиничка проценка на состојбата на оралниот епител преку дополнителни скрининг методи - орална цитологија по пат на цитолошки тест - “brush” биопсија,
- клиничка проценка на состојбата на оралната лигавица преку употреба на скрининг систем за визуелизација на мукозните алтерации – VELscope® имиџинг систем.
- Со клиничка инвестигација - инспекција ги евидентиравме големината, формата и бојата на лезијата, длабочината на лезијата, како и десквамација на епителот, постоење на ерозии, улцерации или рагади. При клиничкиот преглед нотирано е постоење на дополнителни знаци како што се крварење, губиток на сензибилитет, печење и жарење на оралната лигавица. Со палпација на промените се утврдени следните карактеристики: тврдина на лезијата, индурација на околните структури и ткива и фиксираност на лезијата за длабоките ткива.
- Врз база на клиничкиот преглед поставена е работна дијагноза.
- По завршување на клиничката инвестигација се применија сите дополнителни дијагностички методи како, боење со растворот на толудин сино, цитолошка анализа со “brush” техника и визуелизација на оралните лезии со VELscope системот и добиените резултати за секоја метода поединечно беа евидентирани.

Кај сите учесници во студијата направена е комплетна крвна слика и реализирана е инцизиона односно ексцизиона биопсија за патохистолошка верификација на земените биоптични примероци, како актуелен златен стандард на истражувачката постапка. Анамнестичките податоци и клиничките прегледи беа комплетирани со патохистолошки

наод за секој пациент одделно, а добиените клинички параметри беа евидентирани во историја на болест на секој пациент и документираны со фотографии.

АКТУЕЛНИ СКРИНИНГ ТЕСТОВИ И МЕТОДИ КОИ ГИ УПОТРЕБИВМЕ ЗА ДЕТЕКЦИЈА НА МЕКОТКИВНИТЕ ПРОМЕНИ ВО УСНАТА ПРАЗНИНА

Меѓу скрининг тестовите или дијагностичките помагала кои се достапни за детекција на потенцијално малигните промени на оралниот епител, а кои се дел од спроведената дијагностичко-истражувачка постапка на ова истражување некои се користат и проучуваат многу години, додека други неодамна станаа комерцијално достапни (Табела 1).

СТАНДАРДНИ СКРИНИНГ ТЕСТОВИ

- Конвенционален орален преглед (КОП)

Воспоставени дијагностички помошни средства

- Толуидинско сино (Толониум хлорид)
- Орална цитолошка анализа

Неодамнешно достапни системи за детекција со помош на светлина

- VELscope®Vx

Табела 1. Скрининг тестови како помошни средства во детекција на орален карцином и потенцијално малигни промени кои се применувани при истражувањето

Скрининг тестовите во ова истражување се евалуираат во однос на нивната сензитивност, специфичност и предвидувачките вредности (Табела 2). Таквата анализа бара резултатот од испитувањето на примерокот да се спореди со резултатите од соодветниот златен стандард кај истата популација. Златниот стандард се користи за класификација на предметите на истражување во однос на нивната вистинска состојба на болеста (присутна или отсутна). Сензитивноста (sensitivity – Se) на еден метод го мери односот на субјекти чиј

резултат по тестирањето за одредена болест е позитивен, додека специфичноста (specificity – Sp) го одредува процентот на добиените резултати без присуство на болест чиј тест бележи негативност. Предвидувачките вредности (predictive values – PV) го одредуваат процентот на лица со позитивни или негативни резултати од тестот кои ја имаат или немаат болеста. Нема дефинирани вредности за идеален скрининг тест, но генерално, пожелно е да има и висока специфичност (мал износ на лажно позитивни) и висока сензитивност (мал износ на лажно негативни резултати). Прифатливиот компромис помеѓу сензитивноста и специфичноста ќе зависи од консеквенците од неуспехот да се открие болеста наспроти трошоците, постапките и другите дополнителни оптоварувања поврзани со лажно позитивните тестови. Друга релевантна ставка е целокупната преваленца на болеста која го доведува соодветниот тест во прашање. Ако болеста е ретка, дури и тестовите со многу висока сензитивност и специфичност ќе дадат многу лажно позитивни резултати.

		Присутна болест	Отсутна болест
Тест резултати	+	a Вистински позитивни	b Лажно позитивни
	-	c Лажно негативни	d Вистински негативни
		$Se = \frac{a}{a + c}$	$Sp = \frac{d}{b + c}$
		$PPV = \frac{a}{a + b}$	$NPV = \frac{d}{c + d}$

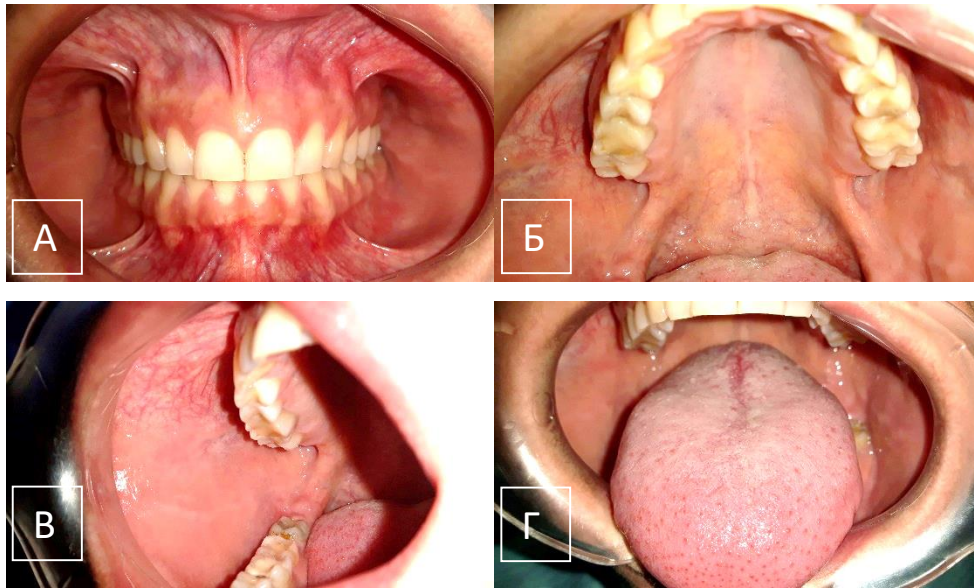
Табела 2. Приказ на формули за пресметување на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност и негативна предиктивна вредност

5.2.1. КОНВЕНЦИОНАЛЕН ИНТРАОРАЛЕН ПРЕГЛЕД (КОП)

Конвенционалниот орален преглед - КОП (conventional oral examination - COE), користејќи нормална (блескава) светлина, долго време претставува стандарден метод за скрининг на оралниот епител. Конвенционалните проекции за потенцијални ткивни промени на некои анатомски локации може да бидат многу успешни. На пример, визуелната инспекција на лезиите на кожата може да биде ефикасен метод за скрининг за меланом, со сензитивност и специфичност до дури 98%^{56,57}. Меѓутоа, додека КОП традиционално претставува прв чекор во скринингот за орален карцином со децении, неговата ефикасност станува дискутабилна. Голем број публикации сугерираат дека клиничкиот орален преглед може да има ограничена вредност како метод за откривање на преканцерозните или раните канцерогени лезии⁵⁸⁻⁶⁰, но постојат и спротивставени мислења кои сугерираат релативно висок степен на сензитивност, специфичност и позитивна предвидлива вредност на КОП.

Иако КОП може да биде ефективен како скрининг тест, сепак постојат многу дилеми во однос на овој пристап бидејќи се смета дека околу 5-15% од општата популација имаат орални мукозни абнормалности¹⁵⁴⁻¹⁵⁶. Затоа, додека КОП може да биде корисен при откривањето на некои орални лезии, тој не ги идентификува сите потенцијално (пре)малигнални лезии, ниту пак точно го открива малиот дел од биолошки релевантните лезии кои веројатно ќе алтерираат во карцином.

Со примена на КОП нотирали се следните карактеристики: присуство на промена/лезија, топографска локализација, големина, боја, волумен и морфологија.



Слика 1. Конвенционален орален преглед на пациент (А) Предворје на усна празнина (Б) Палатум и фарингеални лаци (В) Образна слузница (Г) Јазик

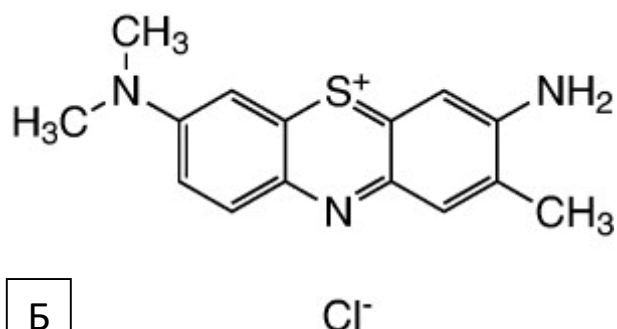
За конвенционалниот орален преглед се користеше светло од рефлекторот на стоматолошкиот стол (15V / 200W, OSRAM, OSRAM AG, Минхен, Баварија, Германија). Регистрацијата на суспектните или клинички абнормални лезии беа забележани и фотографирани со дигитална рефлексна камера (Pentax * ist DS, Pentax Imaging Systems GmbH, Хамбург, Германија) опремена со Pentax 100-милиметарска макро леќа и Macro Ring Lite.

5.2.2. ТКВНО БОЕЊЕ СО ТОЛУИДИНСКО СИНО

Толуидинско сино (ТС), по својот состав познат како толониум хлорид, има афинитет првенствено да се поврзува со ткивата подложени на брза клеточна делба како што се инфламаторно променетото ткиво, ткиво во фаза на регенерација и неопластично ткиво, во ареите поврзани со орални премалигни (ОПМЛ) и малигни лезии. Позитивно пребоена лезија, генерално се смета дека е лезија која демонстрира пенетрирање на сината боја. Врзувањето резултира во боење на абнормалното ткиво за разлика од соседната нормална слузокожа.



А



Б

Слика 2. 1% воден раствор на Толониум хлорид (Толуидин сино)

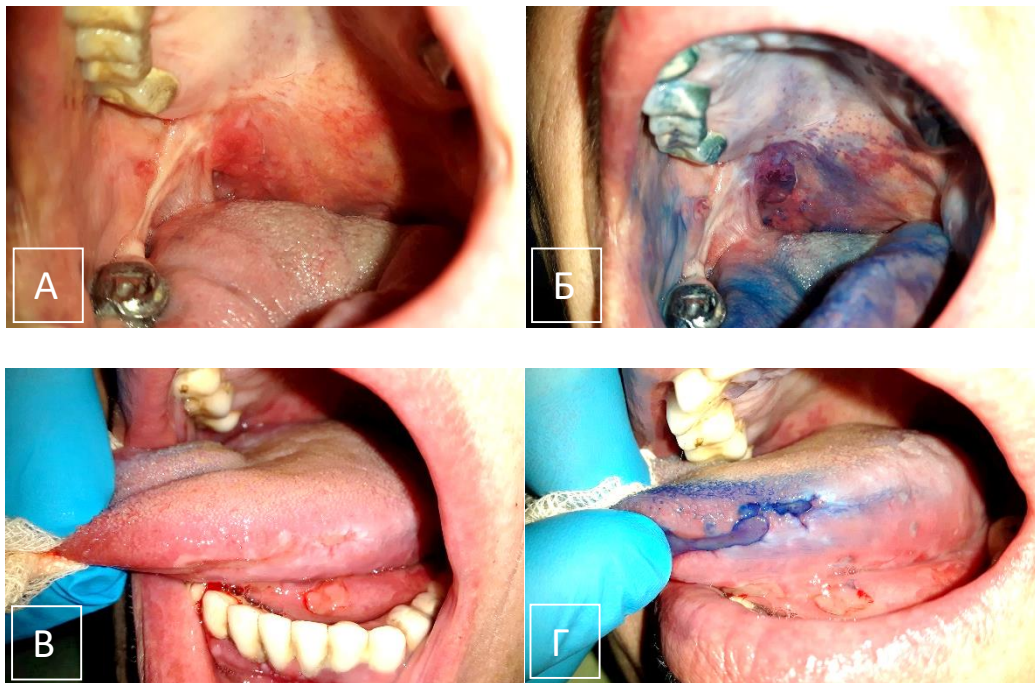
Растворот на толуидин сино кој го користевме во нашиот протокол при изработка на нашето истражување е изомер на толуидин во обликот орто-толуидин и по потекло е од Монтана, САД. Хемиската формула му е C_7H_9N и познат е уште и како о-метиланилин.

Изомер на толуидинот

Тривијално име	o-toluidin
Друго име	o-metilanilin
Хемиско име	2-metilanilin
Хемиска формула	C_7H_9N
Молекулска маса	107.17 g/mol
Температура на стаклена транзиција	189 K ^[2]
Растворливост во вода	1,59%
Точка на топење	-23 °C
Точка на вриење	199–200 °C
Густина	1.00 g/cm ³
Магнетна подложност	76.0 x 10 ⁻⁶ cm ³ /mol
CAS број	[95-53-4]

Табела 3. О-толуидин, изомер на толуидин сино и негови основни карактеристики

Протокол за работа: Пациентите ја плакнат устата со вода 20 секунди, со цел да се отстранат остатоците од храна пред испирање со 1% раствор на оцетна киселина исто така 20 сек. Толуидин сино (1% w/w) се применува како раствор за плакнење во тек на 20 сек, а потоа се користи 1% раствор на оцетна киселина во времетраење од 20 секунди за механички да се елиминира вишокот пенетрирана боја. Потоа следи фото-документирање.



Слика 3. Изглед на десен фарингеален лак пред (А) и по ткивно боење со Толуидинско сино (Б), изглед на лева бочна страна на јазик пред (В) и по боење со Толуидинско сино (Г)

Толуидин сино е витална боја која може да предизвика обојување на нуклеинските киселини и абнормалните ткива. Со децении се користи како помошно средство за идентификација на мукозни ирегуларности на грлото на матката, како и во усната празнина. Тоа е ценето од страна на експертите како корисен начин за демаркација на границите на лезијата пред изведување на ексцизија. Додека во моментов сеуште не е поддржана во САД како постапка за рутинска примена во секојдневната стоматолошка пракса, оваа техника како скрининг програма за рана детекција на орален карцином наоѓа широка

примена во други делови на светот во последните неколку децении, наметнувајќи се како средство за идентификување на клинички недефинирани лезии кај пациенти чија што орална лигавица може да делува нормално ⁷⁵.

Во применетата методологија толумидин синото го применувавме со цел да ги обои оралните лезии, а е корисен како дополнение на клиничката експлорација за идентификација на потенцијално премалигните лезии. Генерално, сензитивноста на боењето со толумидинско сино за детекција на оралните карциноми се движи од 0,78 до 1,00, а специфичноста од 0,31 до 1,00.

Генерално, боењето со толумидинско сино е користено за откривање на оралните карциноми, кој е позитивен кај само 50% од лезиите со дисплазија. Можно е толумидинот да обои вообичаени, бенигни состојби како што се неспецифичните улцери. Високата стапка на лажно позитивни обојувања и ниската специфичност во случаите на дисплазија, најверојатно ги надминува потенцијалните придобивки во детекцијата на оралните карциноми. Ова, сепак, не ја исклучува неговата корисност (вредност) како додаток на клиничкиот преглед и детекцијата на случаи, дури и во примарната здравствена заштита.

Боењето со толумидин сино тоа може да предвиди и позитивен наод кај многу мали и едвај видливи орални лезии па се до макроскопски непрепознатливите мукозни лезии кои подоцна би резултирале со дисплазија. Со оглед на можноста дека позитивното толумидинско сино боење има релативно висока корелација со високо-ризичните молекуларни промени, вредно е да се испита потенцијалната корелација на овие наоди со скринингот на лезиите кои не можат да се нотираат само со конвенционалниот орален преглед т.е. инспекција.

Во однос на критериумите за позитивен резултат, постојат бројни дебати за интензитетот на обојување и дали бледо синото обојување треба да се смета за позитивен наод.

5.2.3. ЦИТОЛОШКА АНАЛИЗА ПО БИОПСИЈА СО ЧЕТКИЧКА (Орална Brush биопсија)

Во текот на изминатите неколку децении, оралната цитологија е повторно во фокусот на научното истражување. Сепак, за разлика од земањето примероци на клетки од грлото на матката, анализата на површинските епителни клетки на усната празнина и орофарингсот со стандардна ексфолијативна цитологија досега се покажала несигурна. Обликот на усната празнина го оневозможува испитувањето на целосната мукозна површина. Без минимална инвазивност, не е можно да се пристапи до подлабоките клеточни слоеви на усната празнина со конвенционална ексфолијативна цитологија.

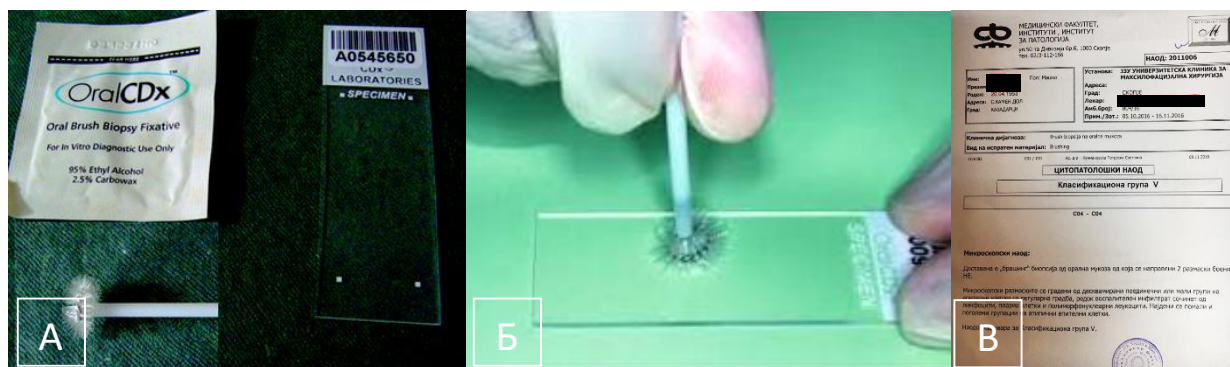
Brush биопсијата (CDx Laboratories, Suffren, NY) била воведена како потенцијална алатка за откривање на случаи со карциноми во 1999 година. Нејзината намена била испитување на клинички лезии кои инаку не би биле подложени на биопсија, бидејќи нивото на сомневање за карцином, врз основа на клиничките карактеристики, бил низок.

Оралната цитологија претставува дијагностичка техника која се користи за да се земаат примероци на орално ткиво за хистоморфолошка анализа. Овие клеточни примероци потоа може да се анализираат со различни уникатни дијагностички мерки, вклучувајќи цитоморфометрија, ДНК цитометрија и имуноцитохемиска анализа.

Цитопатологија е микроскопска анализа на клеточни примероци, собрани од мукозните површини (преку брис, земање мали делови или лаважа) или од внатрешноста, преку тенко-иглена аспирација. За разлика од традиционалната ексфолијативна цитологија, оралната brush биопсија ја изведуваме со OralCDx тестот, кој користи специјално дизајнирана кружна четка која собира трансепителни клеточни примероци составени од

слободни клетки и кластери, може да ги собере сите епителни слоеви, вклучувајќи го слојот на базалните клетки и повеќето поврчни делови на ламина проприа. Овие примероци се земаат со ротациски движења со благ притисок, повторувани 5 - 15 пати, се фиксираат на стакло и се бојат со помош на модифициран Папаниколау тест. Така добиениот клеточен материјал е вистинска репрезентација на сите епителни слоеви со расчленета форма. Примероците се скенираат и се анализираат под микроскоп со помош на компјутерски имиџинг систем, кој може да рангира клетки, врз основа на степенот на абнормалната морфологија. Резултатите се пријавуваат како "негативни т.е. бенигни", "позитивни" или "атипични". Кога се пријавува абнормален резултат (атипичен или позитивен), лекарот мора да продолжи со биопсија на лезијата, бидејќи употребата на brush цитологија не овозможува дефинитивна дијагноза.

Протокол за работа: Со четкичката се изведуваат ротациски движења под благ притисок до појава на крварење на епителот, содржината од четкичката се пренесува на стакленце и се фиксира со содржината од кесичката – фиксатор (4% раствор на формалин). По 10 минути, се складира во стерилен контејнер и заедно со пополнетиот формулар се испраќа на патохистолошка анализа.



Слика 4. OralCDx тест за изведување на brush биопсија (A;B) и цитопатолошки наод (B)

5.2.4. СКРИНИНГ СИСТЕМ ЗА ВИЗУЕЛИЗАЦИЈА НА МУКОЗНИ АЛТЕРАЦИИ –

VELscope® ИМИЦИНГ СИСТЕМ

Употребата на автофлуоресценција како дијагностичка алатка за откривање на карцином е за првпат опишана уште во 1924 година и е под интензивна евалуација уште 30 години. Автофлуоресценцијата ги користи природните флуорофори кои се наоѓаат во епителот и субмукозата (на пример, колаген, еластин), кои зрачени со различни бранови должини резултираат со екситација. Кога се зрачени со бранови должини помеѓу 375 и 440 nm, флуорофорите покажуваат флуоресценција во зелениот спектрален опсег и нормалната, непроменета мукоза емитува бледо зелена автофлуоресценција кога се гледа преку селективен, тесен опсег. Потребна е соодветна филтрација, поради интензивната светлина што се користи за екситација на флуорофорите. Без соодветна филтрација, би било невозможно да се визуелизира бледиот и тесниот автофлуоресцентен сигнал. Сепак, диспластичните ткива губат флуоресцентна емисиона моќ поради нарушување на дистрибуцијата на флуорофорите и се нотираат како потемни зони во споредба со околното здраво ткиво. Главната критика на автофлуоресценцијата при дијагностиката на канцерот е недостатокот на способност за разграничување на лезии со висок ризик од лезии со низок ризик.

VELscope® системот ја користи автофлуоресценцијата на оралните ткива како нов и целосно неинвазивен метод за скрининг на мукозни промени, и овозможува рана детекција на потенцијални преканцерози, орален карцином и други орални заболувања, а со тоа се позиционира како напредно ниво на превентивна заштита. Се изведува лесно, брзо (1-2 минути), безбедно и целосно безболно, едноставен е за манипулирање, неинвазивен и нетоксичен. При користење бранова должина помеѓу 375 и 440 nm нормалната, непроменета слузокожа емитува бледо зелена светлина кога се гледа преку селективен, тесно-појасен филтер. Области со намалена автофлуоресценција се сомнителни за епителна дисплазија или орален карцином и се презентираат како темни области, додека нормалната лигавица се гледа како светло зелена ареа. Не е потребна никаква претходна подготовка на ткивото кое ќе подлежи на скрининг.

VELscope® Vx систем

<i>Бренд</i>	VELscope Vx
<i>Модел</i>	033958000
<i>Димензии</i>	22 × 6 × 9 cm
<i>Компатибилност</i>	Vx камера и стандардна дигитална камера
<i>Кабел</i>	0033491500 / LOT: M049010173
<i>Тежина на рачен дел</i>	0,41 kg
<i>Намена</i>	Скрининг за орален карцином
<i>Напојување</i>	100 – 240 V и батерија со времетраење од 12 мин.
<i>Сериски број</i>	J272010002
<i>Место и година на производство</i>	Den-Mat Corporation, Санта Марија, Калифорнија, САД

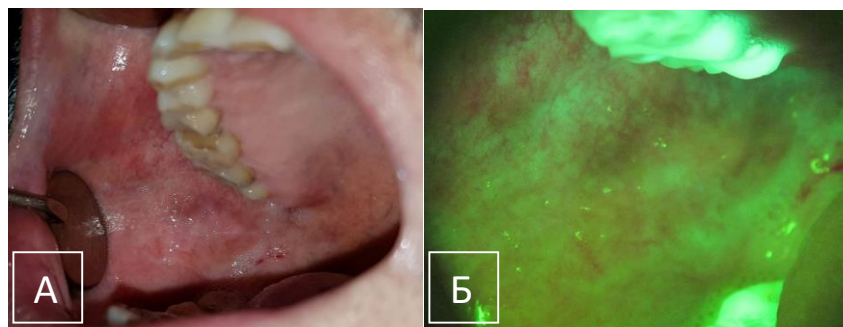
Табела 4. Карактеристики на VELscope® системот за детекција со помош на светлина



Слика 5. Конфигурација на VELscope® системот и начин на негова примена (А и Б)

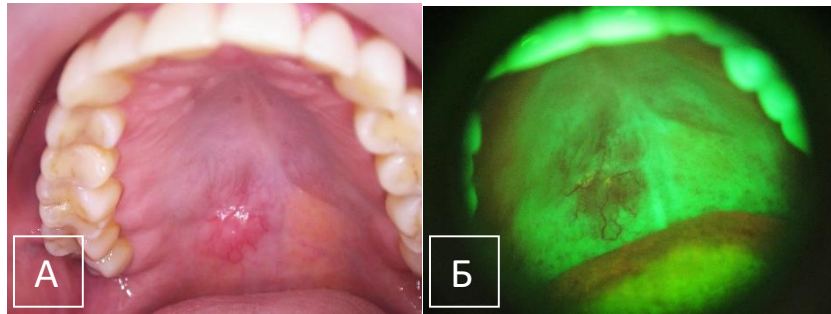
Флуоресцентната спектроскопија вклучува експозиција на ткивата и нивна ексцитација под светлина со различна бранова должина, при што може да се идентификуваат суптилни разлики помеѓу нормалните и абнормалните ткива. Спротивно на тоа, флуоресцентниот имиџинг предвидува изложување на ткивата на светлина со специфична бранова должина, што резултира со автофлуоресценција на клеточните флуорофори по нивна ексцитација. Присуството на клеточни промени ја менува концентрацијата на флуорофорите, што влијае на расејувањето и апсорпцијата на светлина во ткивото, резултирајќи со промени во бојата што може визуелно да се набљудува. Врз основа на достапните податоци, утврдено е дека и скринингот со употреба на ткивната флуоресценција и спектроскопијата се одлични при разликување на анатомото-хистолошките карактеристики помеѓу нормалното и патолошки променетото малигно ткиво. Сепак, се потенцира фактот дека скринингот со флуоресценција е далеку покорисен во откривањето на нови лезии отколку методот на спектроскопија, бидејќи не е можно да се скенира целата усна празнина со малите оптички влакна кои се употребуваат при техниката на спектроскопија.

VELscope® е пренослив уред кој овозможува директна визуелизација на усната празнина и е наменет за употреба при скрининг за орален карцином. Под интензивна сина светлина со бранова должина од 400-460 nm, здравата и непроменета орална слузница презентира бледо зелена автофлуоресценција, т.е. бледо зелено обојување насекаде каде не се очекува ткивна аберација. Спротивно на тоа, абнормалните или сомнителните ткивни региони ги намалуваат нивоата на нормална автофлуоресценција и демонстрираат темни, речиси црни обоени арии во споредба со околното здраво ткиво.



Слика 6. Негативен наод при скрининг со VELscope® (А и Б)

Главната вредност е демонстрацијата дека VELscope® може да ги идентификува лезиите кои не можат да се видат под нормална (дневна) светлина. Потврда за ваква способност од која било технологија, се смета за голем чекор напред во скринингот на оралниот карцином.



Слика 7. Позитивен наод при скрининг со VELscope, подоцна и патохистолошки верифициран со дијагноза Tumor mixtus (A и Б)

Накратко, додека прелиминарните резултати ветуваат, информациите во врска со способноста на VELscope® да ги идентификува премалигните региони во рамките на Класа II лезиите или да открие лезии кои инаку визуелно се невидливи, е ограничен. Дополнителни, добро дизајнирани клинички испитувања, се неопходни за проценка на корисноста на овој уред во нашите цели.

5.3. ЗЕМАЊЕ ТКИВЕН ИСЕЧОК И ПАТОХИСТОЛОШКА ВЕРИФИКАЦИЈА

Биопсија (грчки: bios=живот, opsein=изглед) претставува медицинска техника која вклучува земање клетки или ткива со цел нивно испитување. Тоа се изведува под микроскоп или хемиски (на пример користење на PCR метод). Кога се зема само дел од ткивото, таквата процедура се означува како инцизиона биопсија, додека при отстранување на целата ткивна промена или сомнителна површина, тоа се дефинира како ексцизиона биопсија. Земање на дел од ткиво или некои телесни телности со помош на игла се дефинира како аспирациона биопсија или пункција. Дијагностички тест кој

претставува златен стандард за потенцијалните малигни или малигните орални мукозни лезии, останува биопсијата и патохистолошките испитувања на ткивата. Биопсијата е најрелевантна потврда за присуство на епителна дисплазија или неоплазија во усната празнина.

Според начинот на изведување на постапките, оралната биопсија се дели на директна и индиректна биопсија. Првата означува земање на материјал за инвестигација од самата мукозна површина, додека индиректната биопсија се изведува во региите каде суспектната лезија е прекриена со навидум нормална и непроменета орална слузница. Според времето на изведување, биопсијата се дели на преоперативна, интраоперативна и постоперативна.

Мотив за изведување на биоптична постапка претставува хистолошка промена со непозната етиологија или пак сомнеж за присутно заболување. Биопсија се изведува и поради диференцирање на самата ткивна промена дали е од бениген или малиген карактер, како и точно утврдување на видот на туморот. Често пати, биопсијата е употребувана и како метод за евалуација на успешноста т.е. ефикасноста од претходно изведеното лекување, а во високо развиените западни земји потврдата од патохистолошката анализа претставува и релевантен правен документ со висока медицинско-легална вредност кој се користи во различни судски постапки.

Обете, инцизиона и ексцизиона биопсија се изведуваат под локална анестезија, со скалпел, сечиво број 15, респектирајќи ги сите потребни предоперативни подготовки, како и познатиот сооднос од 3:1 (должина/ширина) на биоптичниот примерок. Потоа примерокот се поставува во средство за фиксација (10% неутрален р-р на формалин) кое ќе го одржи ткивото во кондиција како под дејство на бактериите не би дошло до физичко или хемиско оштетување или негово распаѓање. Фиксацијата се одвива од 6 до 36 часа, а потоа се прават пресеци со дебелина од 4-5 μ и истите се бојат со стандардно боење хематоксилин и еозин (H&E). Резултатите се отчитуваа на светлосен микроскоп Leica.

Со анализа на земениот примерок може да се утврди дали патолошкиот процес се проширил или дали постои опасност од негово натамошно ширење. Патохистолошкиот наод, дефиниран како негативен примерок, значи дека не се пронајдени патолошки

промени во рамки на анализириот биоптичен материјал. Позитивен примерок означува присуство на патолошка промена од типот на пренеопластична промена, епителна дисплазија, Ca in situ и орален карцином и наложува потреба од лекување. Бројот на зементи биоптични примероци и нивна локација се одлука на терапевтот врз основа на клиничкиот изглед на лезијата. Доколку лезијата демонстрира повеќе области каде би била индицирана биопсија, треба да се земе повеќе од еден примерок.

Биопсијата треба да биде доволно широко изведена за да го инволвира, освен сомнителното, и нормалното т.е непроменето ткиво, како патологот би поставил дијагноза без потреба од дополнителни примероци (мали примероци се потешки за манипулација а одредени процеси како фиксација на примерокот може да доведат до дополнително намалување на големината на примерокот).

Скапеловата биопсија е најшироко прифатена техника и техника која покажува најмалку ограничувања за добивање квалитетни примероци од усната празнина.

По завршувањето на процедурата се поставува потребниот број сүтури на ткивото.



Слика 8. Изглед на лезија од еозинофилна улцера на десен раб на јазик (А) Патохистолошки изглед на присутната лезија (Б) Изглед на јазикот по поставени сүтури по инцизиона биопсија (В) Изглед на јазикот по заздравување

ДИЈАГНОСТИЧКА ЛАБОРАТОРИЈА
ЛАБОРАТОРИЈА ЗА ЦИТОЛОГИЈА И ХИСТОПАТОЛОГИЈА
Ул. 50 Октомври бр. 34 1000 Скопје Македонија телефон: 02 31 76 528 веб: www.histo.mk

Име: [REDACTED] Пол: Ж
Презиме: [REDACTED]
Роден: 27.05.1951
Адреса: Куќа Баир бр 64
Град: 2420 - Радовиш

Установа: Хируршка клиника
Адреса: ул. Водњанска бр. 64
Град: 1000 - Скопје
Лекар: [REDACTED]
Број: [REDACTED]
Примено: 29.12.2016

Клиничка дијагноза: 3 - TU MALIGNUM LINGUAE LATERIS SINISTRI
Вид на испратен материјал: 7 - Surgical Biopsy - Excision
INCISIONA BIOPSIJA ZA HP ANALIZA

ХИСТОПАТОЛОШКИ НАОД
CARCINOMA PLANOCELLULARE INVASIVUM
(141201 - 807300 - □)

Макроскопски наод:
Доставениот биопсичен материјал се состои од два плоскати ткивни фрагменти од 15 x 5 x 3 милиметри, и 15 x 4 x 3 милиметри со белчесто-сива боја, во целост, во два калупа.

Микроскопски наод:
Макроскопскиот преглед на исечоците од двата доставени биопсични материјали покажуваат интензивна хронична инфламација, со густ инфилтрат од лимфоцити, плазма клетки, еозинофили и ретки еритроцити. Инфламацијата е интензивна во централниот дел на фрагментот, а во периферијата е помалку интензивна. Во централниот дел на фрагментот, во длабочина, се гледаат добро формирани, во попречно - пругастата мускулатура. Во останатите делови на фрагментот, во длабочина, се гледаат нагласен едем и филтрат.

ХИСТОПАТОЛОШКИ НАОД
STOMATITIS CHRONICA GRAVIS CUM HYPERPLASIA EPITHELII ORIS PSEUDOCARCINOMATOSA
(145900 - 430000 - □)

Макроскопски наод:
Доставениот биопсичен материјал се состои од два плоскати ткивни фрагменти од 15 x 5 x 3 милиметри, и 15 x 4 x 3 милиметри со белчесто-сива боја, во целост, во два калупа.

Микроскопски наод:
Макроскопскиот преглед на исечоците од двата доставени биопсични материјали покажуваат интензивна хронична инфламација, со густ инфилтрат од лимфоцити, плазма клетки, еозинофили и ретки еритроцити. Инфламацијата е интензивна во централниот дел на фрагментот, а во периферијата е помалку интензивна. Во централниот дел на фрагментот, во длабочина, се гледаат добро формирани, во попречно - пругастата мускулатура. Во останатите делови на фрагментот, во длабочина, се гледаат нагласен едем и филтрат.

Заговара за ХРОНИЧНА ИНФЛАМАЦИЈА НА ОРАЛНА МУКОЗА ОД ТЕЖОК СТЕПЕН СО КАРЦИНОМАТОЗНА ХИПЕРПЛАЗИЈА НА ЕПИТЕЛОТ.

Слика 9. Пример од хистопатолошки наод со потврдена работна дијагноза и упатување кон хируршко лекување (А и Б)

5.4. СТАТИСТИЧКИ МЕТОД

Статистичките серии, според дефинираните варијабли од интерес се табеларно и графички прикажани;

- дистрибуцијата на нумеричките статистички серии (правилна/неправилна) е тестирана со Kolmogorov Smirnov test, Lilliefors test и Shapiro-Wilk's W test;
- структурата на нумеричките/квантитативни серии е анализирана со мерките на централна тенденција (просек) и мерките на дисперзија (стандардна девијација);
- структурата на атрибутивните/квалитативни серии е анализирана со помош на односи и пропорции;
- тестирање на значајност на разлика помеѓу три аритметички средини кај независните примероци, при правилна дистрибуција е направено со One-way ANOVA, а тестирање на

значајност на разлика помеѓу две аритметички средини со Tukey honest significant difference Test;

- тестирање на значајност на разлики помеѓу три аритметички средини кај независните примероци при неправилна дистрибуција е направено со Kruskal Wallis ANOVA;
- тестирање на значајност на разлика помеѓу три пропорции кај независните примероци е направено со Kruskal Wallis ANOVA , а тестирање на значајност на разлика помеѓу две пропорции со Mann Whitney U Test;
- Точноста / дијагностичката вредност на испитуваните методи е одредувана со Тестот за сензитивност и специфичност;
- Нивото на значајност за $p < 0,05$ при $CI = 95\%$ се зема како статистички сигнификантно;
- Базата на податоци е анализирана со статистичките програми STATISTICA 7.1 и SPSS for Windows ver. 20.



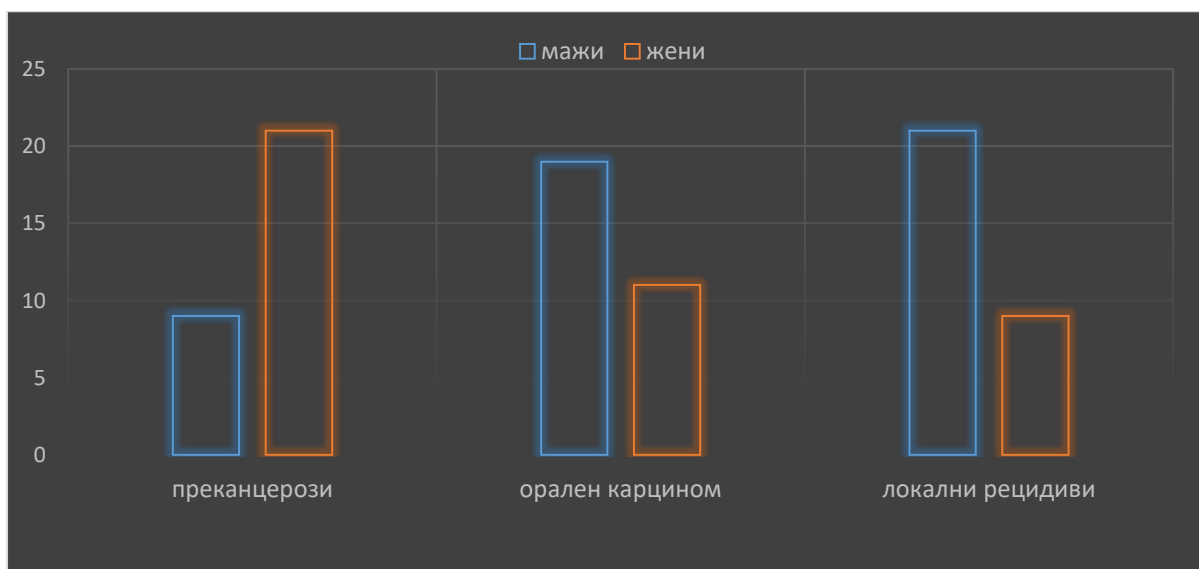
РЕЗУЛТАТИ

Во студијата се анализирани вкупно 90 пациенти, поделени во три испитувани групи. Во првата група (N1) се селектирани 30 испитаници со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози (ПК), втората група (N2) ја чинат 30 пациенти со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК), а во третата група (N3) се вклучени 30 пациенти со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви (ЛР). Од вкупно 90 испитаници, 49(54,4%) беа мажи, а 41(45,6%) од женски пол. Во однос на полот има значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 10,986$ $p=0,0041$). (Табела бр. 1 и Графикон бр. 1)

Табела бр. 1. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според пол

Испитувани групи	мажи	жени	вкупно
<i>Преканцерози (N1)</i>	9	21	30
	30.00%	70.00%	100.00%
<i>Орален карцином (N2)</i>	19	11	30
	63.33%	36.67%	100.00%
<i>Локални рецидиви (N3)</i>	21	9	30
	70.00%	30.00%	100.00%
вкупно	49	41	90

Графикон бр. 1. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според пол



Во групата на преканцерози (N1) има значајно повеќе жени, односно, значајно помалку мажи во однос за втората испитувана група (N2), со лезии високо суспектни за карцином за $p = 0,0265$.

Во групата на преканцерози (N1) има значајно повеќе жени, односно, значајно помалку мажи и во однос на третата испитувана група (N3), со локални рецидиви за $p = 0,0077$.

Помеѓу втората и третата група на испитаници, нема значајна разлика во однос на полот ($p = 0,6573$). (Табела бр. 1А)

Табела бр. 1А. Значајност на разлика во процентуалната застапеност во однос на полот помеѓу трите испитувани групи

<i>Испитувани групи</i>	<i>Mann-Whitney U Test (p)</i>
N1 v.s. N2	Z = 2,217 p = 0,0265*
N1 v.s. N3	Z = 2,661 p = 0,0077*
N2 v.s. N3	Z = 0,443 p = 0,6573

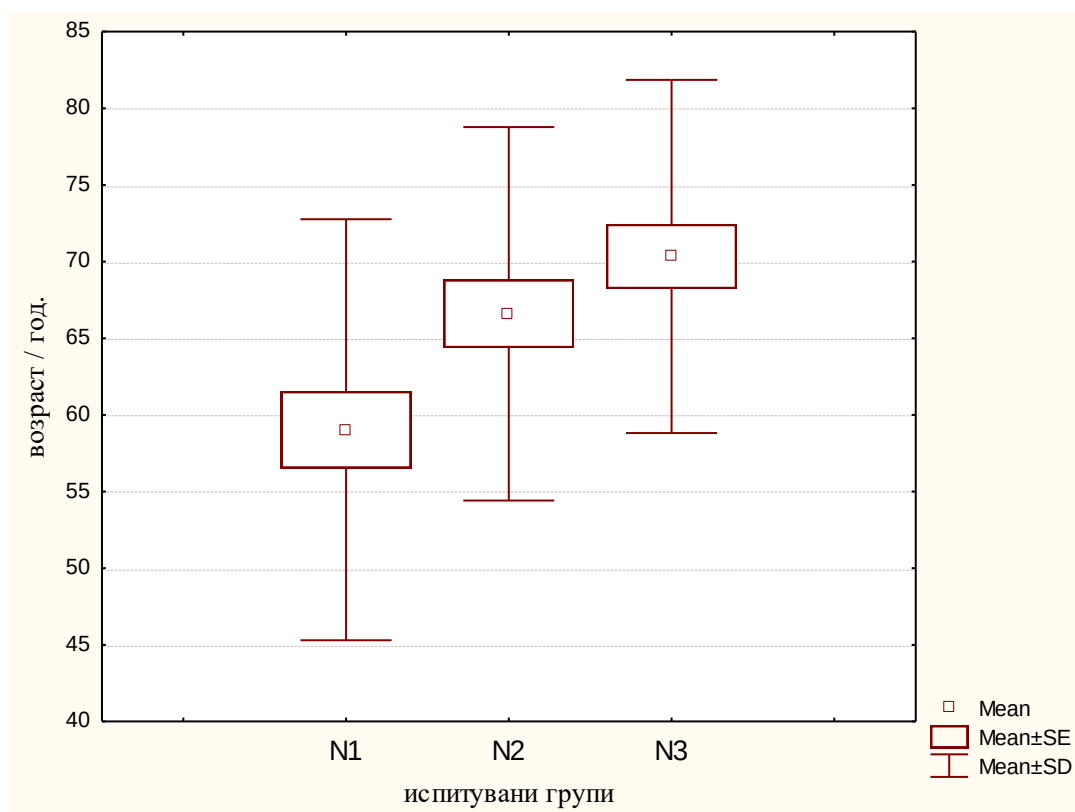
*статистички сигнификантна / значајна разлика

Просечната возраст на вкупниот број на испитаници вклучени во истражувањето ($N = 90$) изнесуваше $65,3 \pm 13,2$ години. Просечната возраст на пациентите со преканцерози изнесуваше $59 \pm 13,7$ години, на пациентите со лезии со орален карцином $66,6 \pm 12,2$ години, а кај пациентите со локални рецидиви изнесуваше $70,3 \pm 11,5$ години. Во однос на возраста има значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (One-way ANOVA: $F = 6,352$ $p = 0,00266$). (Табела бр. 2 и Графикон бр. 2)

Табела бр. 2. Средни вредности на возраста кај испитуваните групи

<i>Испитувани групи</i>	<i>просек</i>	<i>Std. Dev.</i>	<i>Min.</i>	<i>Max.</i>
<i>Преканцерози (N1)</i>	59.0	13.7	26	80
<i>Орален карцином (N2)</i>	66.6	12.2	40	85
<i>Локални рецидиви (N3)</i>	70.3	11.5	52	90
вкупно	65.3	13.2	26	90

Графикон бр. 2. Средни вредности на возраста кај испитуваните групи



Пациентите со преканцерози (N1) се помлади во однос на пациентите од втората испитувана група (N2), со лезии високо суспектни за карцином, но разликата не е значајна – вредноста е гранична ($p = 0,0553$).

Пациентите со преканцерози (N1) се значајно помлади во однос на пациентите со локални рецидиви (N3) за $p = 0,0022$.

Помеѓу втората и третата група на испитаници, нема значајна разлика во однос на возраста на пациентите ($p = 0,4829$). (Табела бр. 2А)

Табела бр. 2А. Значајност на разлика во однос на возраста помеѓу трите испитувани групи

<i>Испитувани групи</i>	<i>Tukey honest significant difference Test</i>
	<i>(p)</i>
N1 v.s. N2	$p = 0,0553$
N1 v.s. N3	$p = 0,0022^*$
N2 v.s. N3	$p = 0,4829$

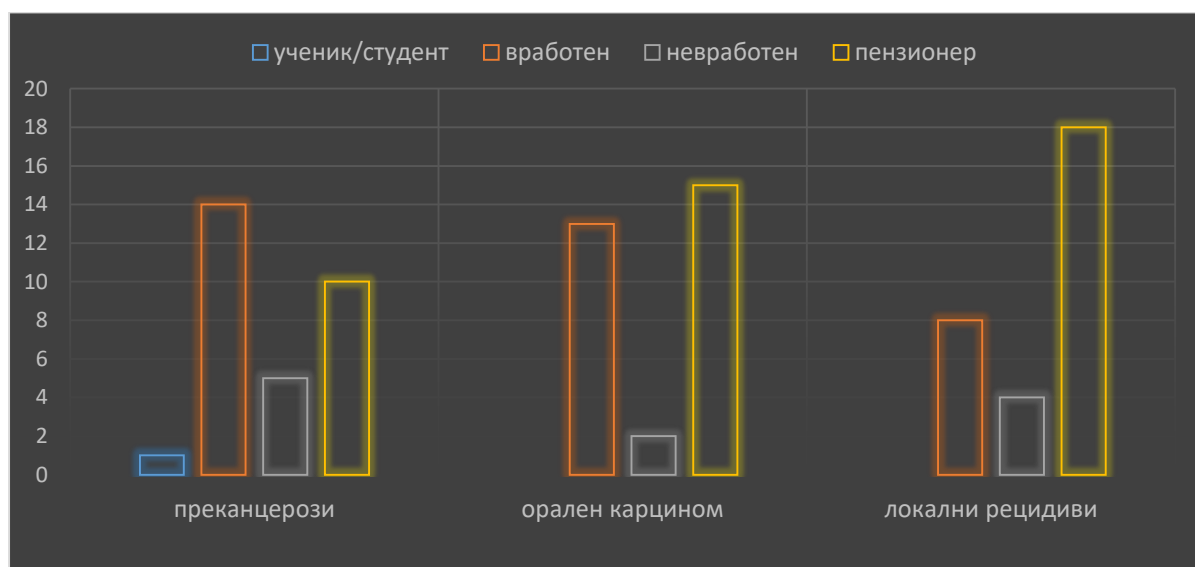
*статистички сигнификантна / значајна разлика

Во групата со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози, најголем број на испитаници беа вработени – 14 (46,7%), а 10 (33,3%) беа пензионери. Во групата со лезии високо суспектни за карцином, 15 (50%) пациенти беа пензионери, а 13 (43,3%) беа вработени. Од испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување, најголем број – 18 (60%) беа пензионери, 8 (26,7%) лица беа во работен однос, а 4 (13,3%) лица беа невработени. Во однос на професионалниот статус на испитаниците нема значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 4,588$ $p=0,1008$). (Табела бр. 3 и Графикон бр. 3)

Табела бр. 3. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според професионален статус

Испитувани групи	ученик/студент	вработен	невработен	пензионер
Преканцерози (N1)	1 3.33%	14 46.67%	5 16.67%	10 33.33%
Орален карцином (N2)	0 0.00%	13 43.33%	2 6.67%	15 50.00%
Локални рецидиви (N3)	0 0.00%	8 26.67%	4 13.33%	18 60.00%
вкупно	1	35	11	43

Графикон бр. 3. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според професионален статус

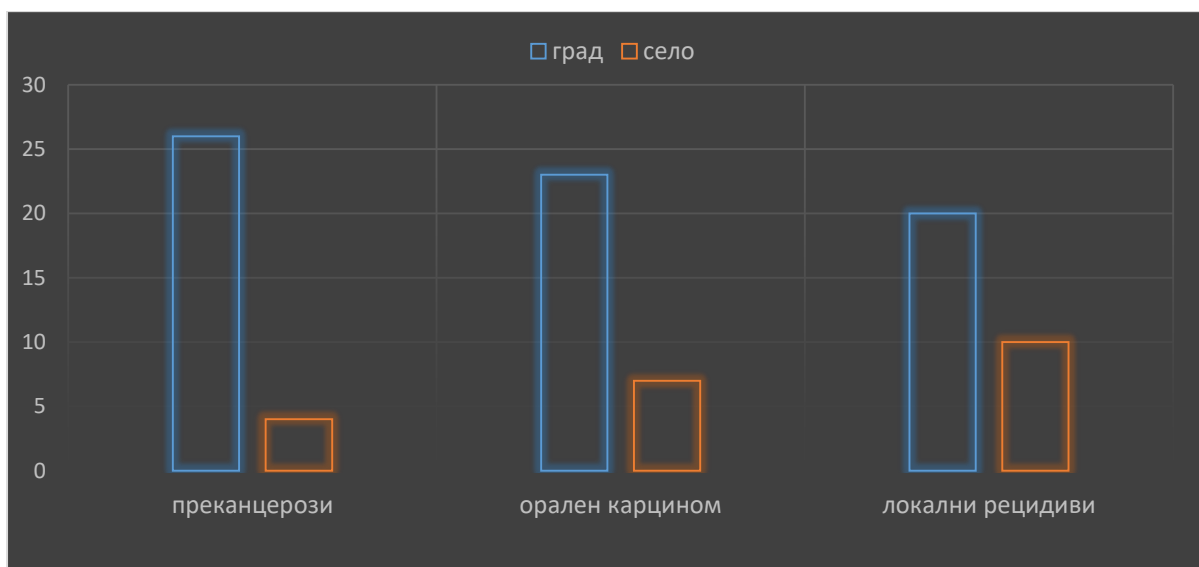


Од вкупно 90 испитаници вклучени во истражувањето, 69 (76,7%) лица живеат во урбана, а 21 (23,3%) лице во рурална средина. Во однос на местото на живеење на пациентите нема значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 3,317$ $p=0,1904$). (Табела бр. 4 и Графикон бр. 4)

Табела бр. 4. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според место на живеење

<i>Испитувани групи</i>	<i>град</i>	<i>село</i>	<i>вкупно</i>
<i>Преканцерози (N1)</i>	26	4	30
	86.67%	13.33%	100.00%
<i>Орален карцином (N2)</i>	23	7	30
	76.67%	23.33%	100.00%
<i>Локални рецидиви (N3)</i>	20	10	30
	66.67%	33.33%	100.00%
<i>вкупно</i>	69	21	90

Графикон бр. 4. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според место на живеење

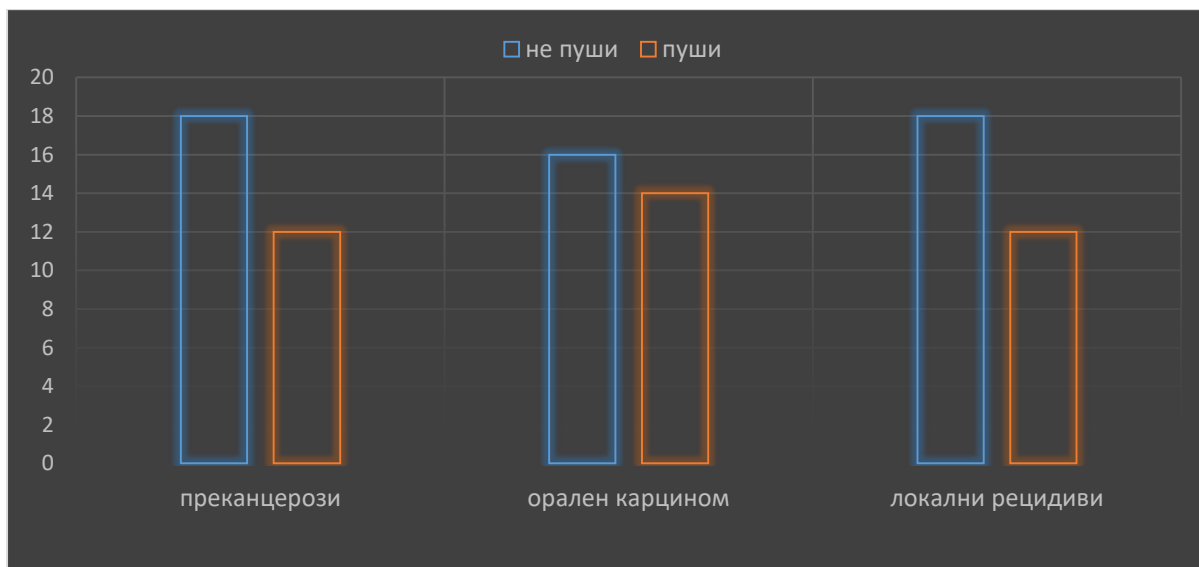


Навика за пушење на цигари потврдија 38(42,2%) лица од вкупниот број на испитаници. Во сите три испитувани групи, процентот на непушачи, односно, пушачи е речиси еднаков. Во однос на навиката за пушење на цигари нема значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=0,360$; $p=0,8351$). (Табела бр. 5 и Графикон бр. 5)

Табела бр. 5. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според навика за пушење

Испитувани групи	не пуши	пуши	вкупно
Преканцерози (N1)	18 60.00%	12 40.00%	30 100.00%
Орален карцином (N2)	16 53.33%	14 46.67%	30 100.00%
Локални рецидиви (N3)	18 60.00%	12 40.00%	30 100.00%
вкупно	52	38	90

Графикон бр. 5. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според навика за пушење

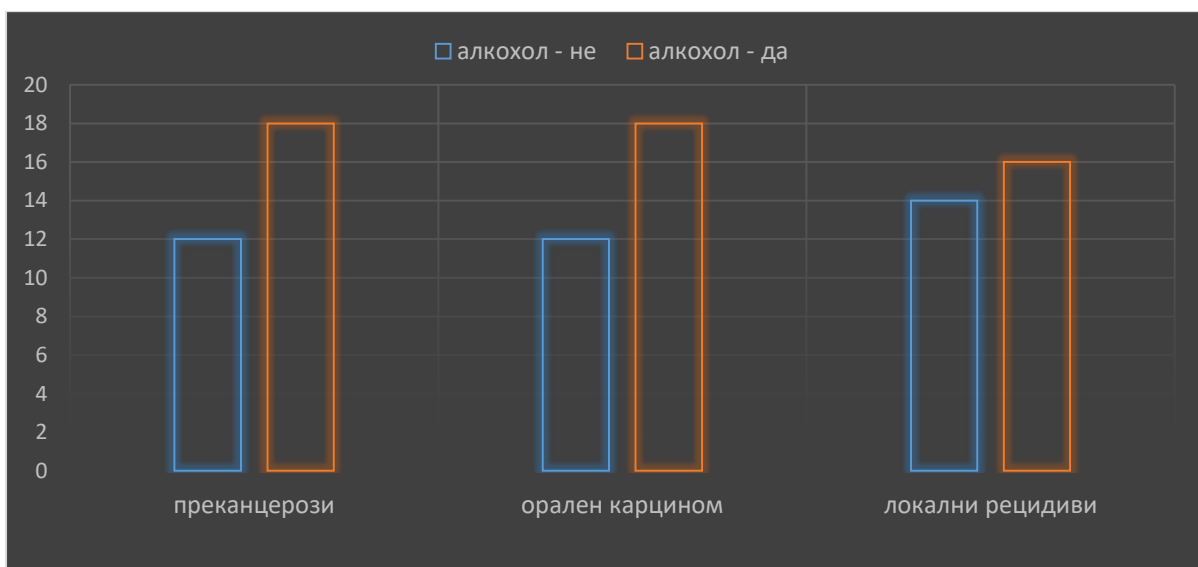


Навика за конзумирање на алкохол потврдија 52 (57,8%) лица од вкупниот број на испитаници. Во сите три испитувани групи, процентот на лицата кои конзумираат алкохол е речиси идентичен. Во однос на навиката за конзумирање на алкохолни пијалоци нема значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=0,360$; $p=0,8351$). (Табела бр. 6 и Графикон бр. 6)

Табела бр. 6. Дистрибуција на испитаниците од трите испитувани групи според навика за консумирање на алкохол

Испитувани групи	алкохол-не	алкохол-да	вкупно
Преканцерози (N1)	12 40.00%	18 60.00%	30 100.00%
Орален карцином (N2)	12 40.00%	18 60.00%	30 100.00%
Локални рецидиви (N3)	14 46.67%	16 53.33%	30 100.00%
вкупно	38	52	90

Графикон бр. 6. Дистрибуција на испитаниците од трите испитувани групи според навика за консумирање на алкохол

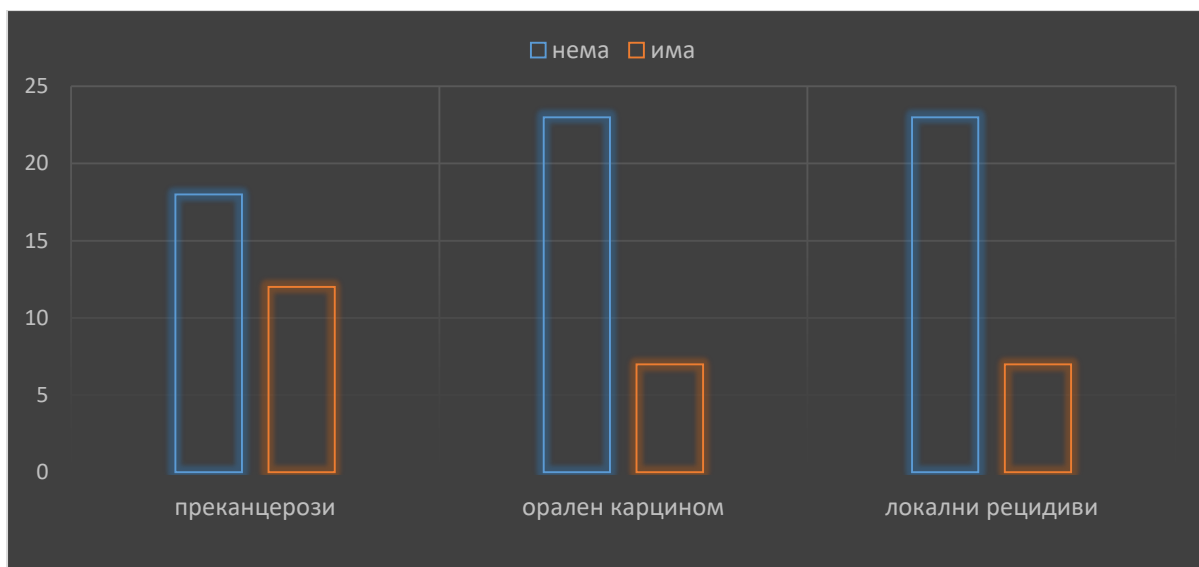


Во групата со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози, промени на останати места во усната празнина имаа 12 (40%) пациенти. Во групата со лезии високо суспектни за карцином, како и во групата со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви, промени на останати места беа регистрирани кај 7 (23,3%) лица. Во однос на промените на останати места во усната празнина кај испитаниците, нема значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 2,674$ $p=0,2626$). (Таб. бр. 7 и Граф. бр. 7)

Табела бр. 7. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според промени на останати места во усната празнина

Испитувани групи	нема	има	вкупно
<i>Преканцерози (N1)</i>	18	12	30
	60.00%	40.00%	100.00%
<i>Орален карцином (N2)</i>	23	7	30
	76.67%	23.33%	100.00%
<i>Локални рецидиви (N3)</i>	23	7	30
	76.67%	23.33%	100.00%
вкупно	64	26	90

Графикон бр. 7. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според промени на останати места

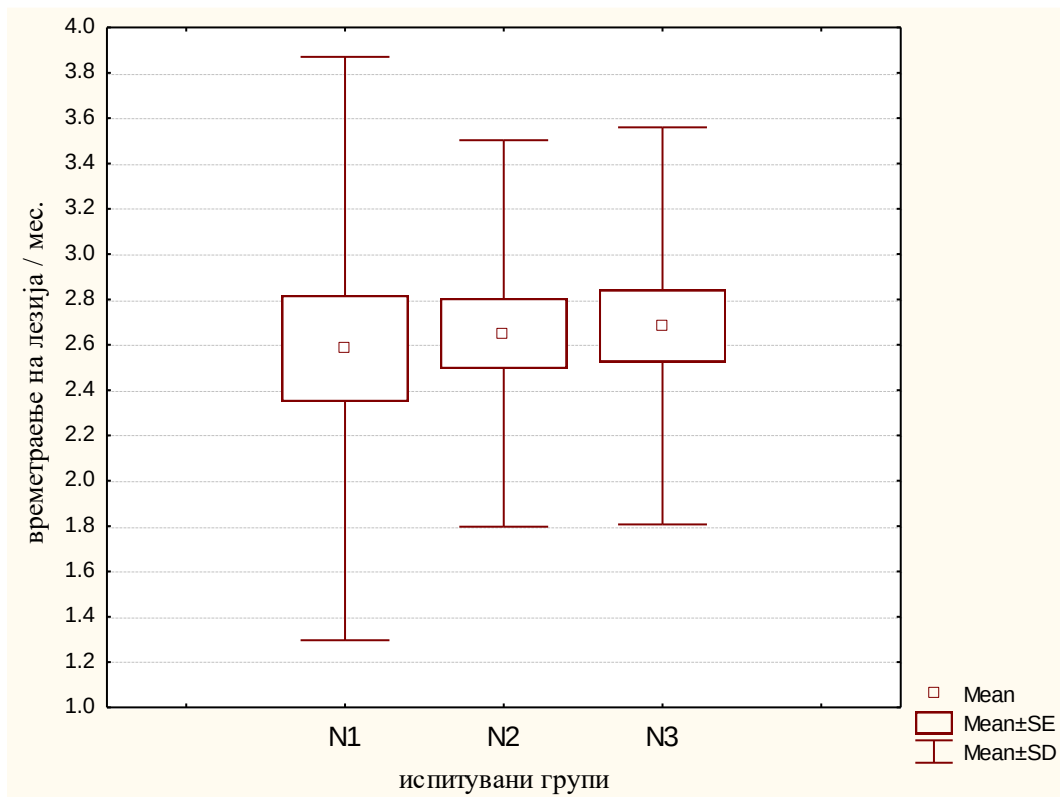


Просечното времетраење на лезијата до јавување на преглед кај вкупниот број испитаници вклучени во истражувањето ($N = 90$) изнесуваше $2,6 \pm 1$ месец. Просечното времетраење на лезијата кај пациентите со преканцерози изнесуваше $2,6 \pm 1,3$ месеци, на пациентите со лезии високо суспектни за карцином $2,7 \pm 0,8$ месеци, а кај пациентите со локални рецидиви $2,7 \pm 0,9$ месеци. Во однос на времетраењето на лезијата, нема значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=0,711$; $p=0,7009$). (Табела бр. 8 и Графикон бр. 8)

Табела бр. 8. Средни вредности на времетраење на лезијата до јавување на преглед кај испитуваните групи (во месеци)

Испитувани групи	просек	Std. Dev.	Min.	Max.
Преканцерози (N1)	2.6	1.3	1	7
Орален карцином (N2)	2.7	0.8	1.5	5
Локални рецидиви (N3)	2.7	0.9	1.5	5
вкупно	2.6	1.0	1	7

Графикон бр. 8. Средни вредности на времетраење на лезијата до јавување на преглед кај испитуваните групи (во месеци)

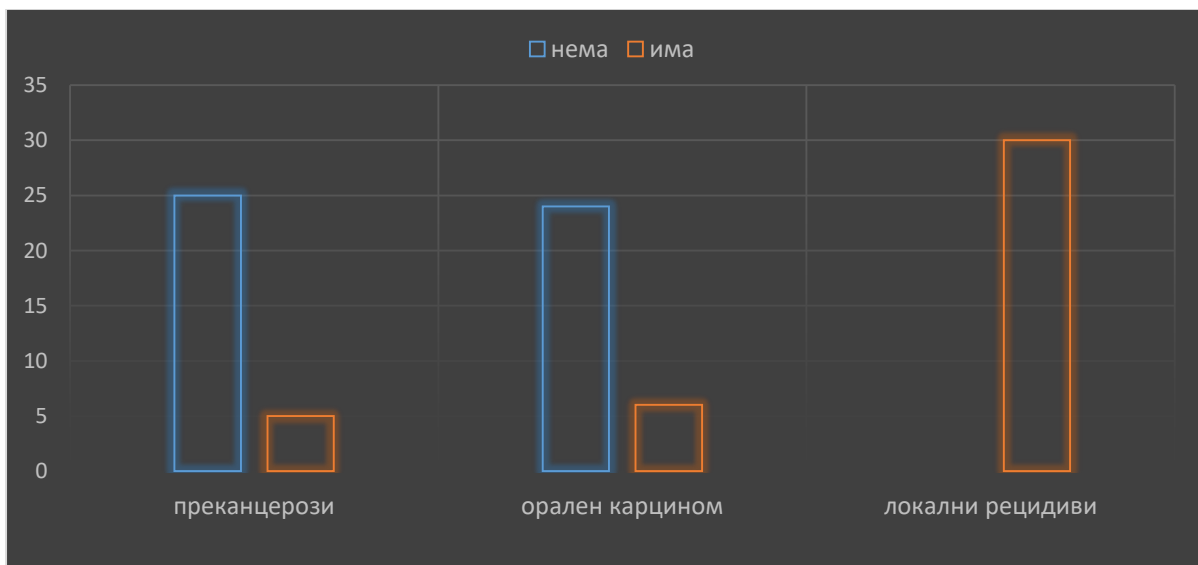


Во групата (N1) со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози, постоење на претходна лезија потврдија 5 (16,7%) пациенти, а во групата со лезии високо суспектни за карцином 6 (20%) пациенти. Сите испитаници со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви, потврдија постоење на претходна лезија во минатото. Во однос на овој параметар, има значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=53,249$; $p=0,00001$). (Табела бр. 9 и Графикон бр. 9)

Табела бр. 9. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според постоење на претходна лезија

Испитувани групи	нема	има	вкупно
Преканцерози (N1)	25	5	30
	83.33%	16.67%	100.00%
Орален карцином (N2)	24	6	30
	80.00%	20.00%	100.00%
Локални рецидиви (N3)	0	30	30
	0.00%	100.00%	100.00%
вкупно	49	41	90

Графикон бр. 9. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според постоење на претходна лезија



Помеѓу пациентите од групата на преканцерози (N1) и пациентите од втората испитувана група (N2), со лезии високо суспектни за карцином, нема значајна разлика во однос на постоењето на претходна лезија ($p = 0,8244$).

Во групата на преканцерози (N1) има значајно помалку постоење на претходна лезија во однос на третата испитувана група (N3), со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви за $p = 0,00001$.

Помеѓу втората и третата група на испитаници, има значајна разлика во однос на постоењето на претходна лезија за $p = 0,00001$. (Табела бр. 9А)

Табела бр. 9А. Значајност на разлика во процентуалната застапеност во однос на постоење на претходна лезија помеѓу трите испитувани групи

<i>Испитувани групи</i>	<i>Mann-Whitney U Test (p)</i>
N1 v.s. N2	Z = - 0,221 p = 0,8244
N1 v.s. N3	Z = - 5,544 p = 0,00001*
N2 v.s. N3	Z = - 5,320 p = 0,00001*

*статистички сигнификантна / значајна разлика

Во групата со орални потенцијално малигни лезии- преканцерози, постоење на тотална беззабост беше нотирана кај 4 (13,3%) пациенти, а во групата со лезии високо суспектни за карцином кај 9 (30%) пациенти. Кај испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви, тотална беззабост беше регистрирана кај две третини од пациентите – 20 (66,7%). Во однос на тоталната и парцијалната беззабост, има значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=19,020$; $p=0,0001$). (Табела бр. 10 и Графикон бр. 10)

Табела бр. 10. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според беззабост

Испитувани групи	парцијална	тотална	вкупно
Преканцерози (N1)	26	4	30
	86.67%	13.33%	100.00%
Орален карцином (N2)	21	9	30
	70.00%	30.00%	100.00%
Локални рецидиви (N3)	10	20	30
	33.33%	66.67%	100.00%
вкупно	57	33	90

Графикон бр. 10. Дистрибуцијата на испитаниците од трите испитувани групи според постоење на беззабост



Помеѓу пациентите од групата на преканцерози (N1) и пациентите од втората испитувана група (N2) со орален карцином, нема значајна разлика во однос на парцијалната и тоталната беззабост ($p = 0,2675$).

Во групата на преканцерози (N1) има значајно помалку лица со тотална беззабост, односно, значајно повеќе лица со парцијална беззабост, во однос на третата испитувана група (N3), со локални рецидиви за $p = 0,00038$.

Во втората група на испитаници (N2), исто така има значајно помалку лица со тотална, односно, значајно повеќе лица со парцијална беззабост во однос на испитаниците од третата група (N3) за $p = 0,0147$. (Табела бр. 10А)

Табела бр. 10А. Значајност на разлика во процентуалната застапеност во однос на постоење на беззабост помеѓу трите испитувани групи

<i>Испитувани групи</i>	<i>Mann-Whitney U Test</i> <i>(p)</i>
N1 v.s. N2	Z = - 1,109 p = 0,2675
N1 v.s. N3	Z = - 3,548 p = 0,00038*
N2 v.s. N3	Z = - 2,439 p = 0,0147*

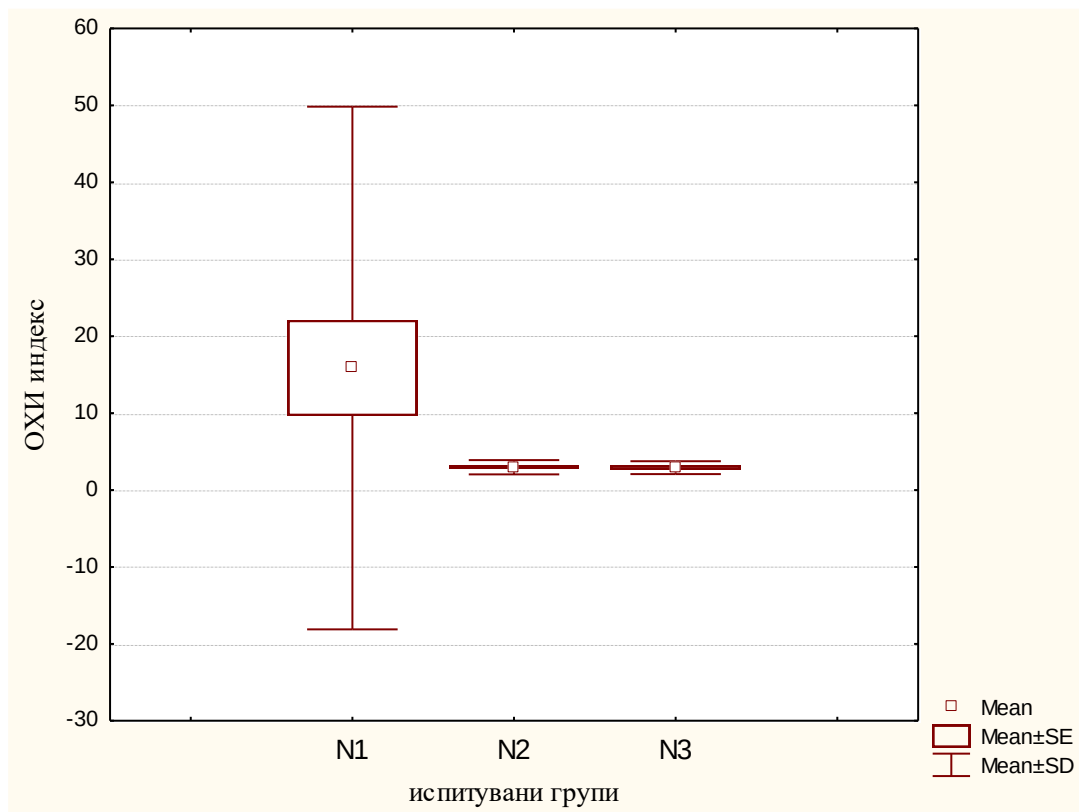
*статистички сигнификантна / значајна разлика

Просечниот ОХИ индекс кај вкупниот број на испитаници (N = 90) изнесуваше $2,88 \pm 0,32$. Просечниот ОХИ индекс кај пациентите со преканцерози изнесуваше $2,77 \pm 0,97$ (стандардната девијација е нешто пониска од просекот, не бележејќи екстремно ниски или екстремно високи измерени вредности – min = 0,80 / max = 4.82). Кај пациентите со орален карцином, ОХИ индексот изнесуваше просечно $2,97 \pm 0,93$, а кај пациентите од третата испитувана група – локални рецидиви изнесуваше $2,92 \pm 0,84$. Во однос на ОХИ индексот, нема значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H=0,026$; $p=0,9872$). (Табела бр. 11 и Графикон бр. 11)

Табела бр. 11. Средни вредности на ОХИ индексот кај испитуваните групи

<i>Испитувани групи</i>	<i>просек</i>	<i>Std. Dev.</i>	<i>Min.</i>	<i>Max.</i>
<i>Преканцерози (N1)</i>	2.77	0.97	0.80	4.82
<i>Орален карцином (N2)</i>	2.97	0.93	1.04	4.86
<i>Локални рецидиви (N3)</i>	2.92	0.84	1.06	3.74
вкупно	2.88	0.32	0.80	4.82

Графикон бр. 11. Средни вредности на ОХИ индексот кај испитуваните групи



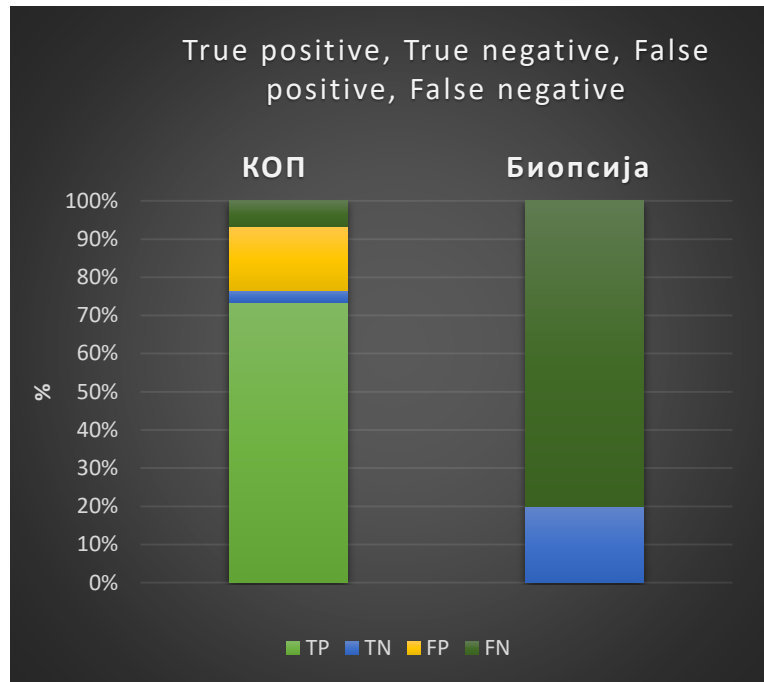
Кај оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози класифицирани во групата (N1), резултатот од патохистолошкиот наод (од биопсијата) бил позитивен кај 24 пациенти, а негативен кај 6 лица. При КОП 27 пациенти биле класифицирани како позитивни, од кои 22 биле вистина позитивни, 5 биле лажно позитивни, 2 лица лажно негативни и 1 лице било класифицирано како точно негативно. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за КОП, сензитивноста изнесува 91,67%, специфичноста е 16,67%, позитивната предиктивна вредност е 81,48% а негативната предиктивна вредност изнесува 33,33%. Точност, односно, општа веројатност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со методот на КОП изнесува 76,67%. (Табела бр. 12 и 12А, Графикон бр. 12 и 12 А)

На табела бр.12А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на методот КОП, заедно со долната и горната граница на интервалот на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 12А е дадена ROC – кривата.

Табела бр. 12. Дистрибуција на испитаниците со оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози според патохистолошки наод и КОП

КОП		Биопсија	
		+	-
+	27	22	5
-	3	2	1
Вкупно	30	24	6

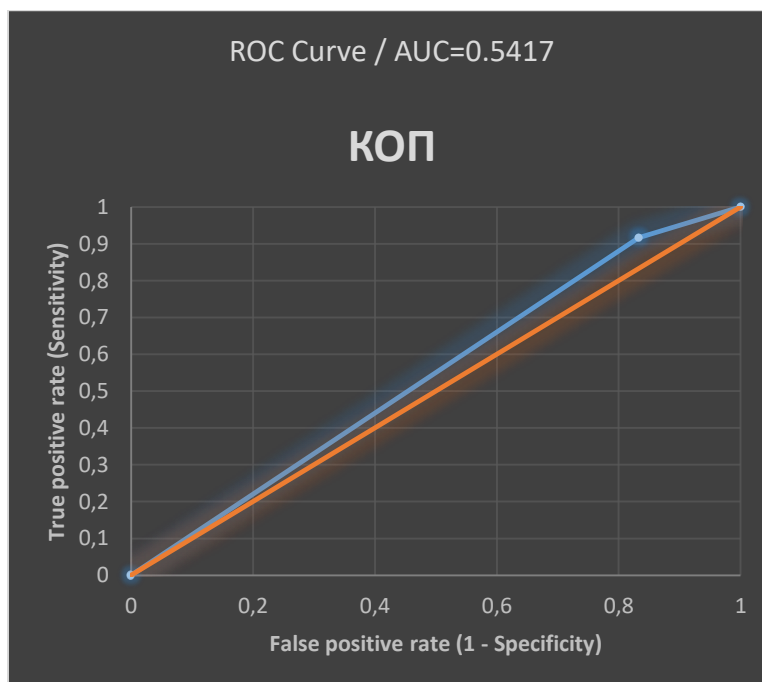
Графикон бр. 12. Дистрибуција на испитаниците со оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози според патохистолошки наод и КОП



Табела бр. 12А. Сензитивност и специфичност на КОП кај оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози

КОП	вредност	CI = 95%
Сензитивност (Se)	91.67%	73.00% to 98.97%
Специфичност (Sp)	16.67 %	0.42% to 64.12%
Позитивна предиктивна вредност (PPV)	81.48%	75.10% to 86.52%
Негативна предиктивна вредност (NPV)	33.33 %	5.11% to 82.27%
Точност (Accuracy)	76.67%	57.72% to 90.07%

Графикон бр. 12А. ROC - крива - Сензитивност и специфичност на КОП кај оралните потенцијално малигни лезии – преканцерози



	Standard error	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
AUC	0.0000	0.5417	0.5417

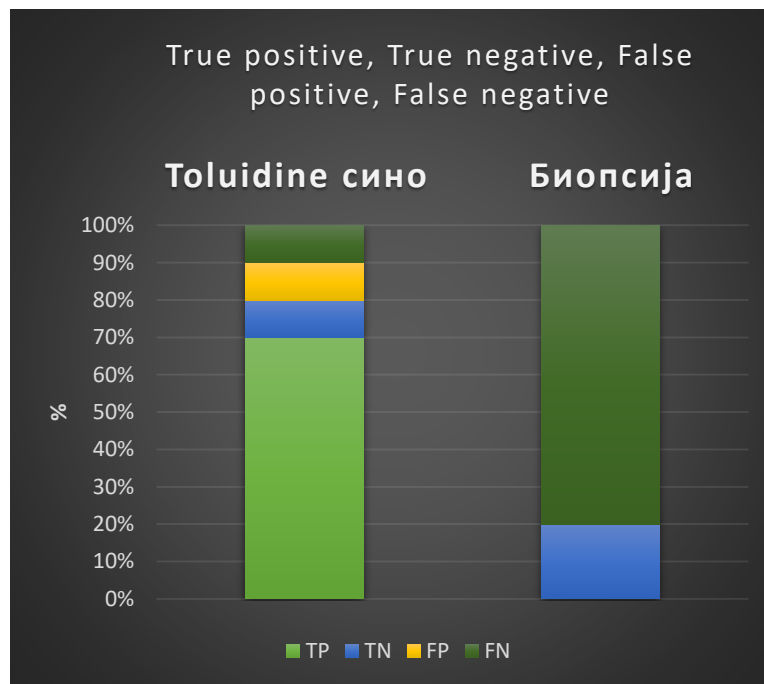
Со Toluidine сино методот, 24 пациенти биле класифицирани како позитивни, од кои 21 биле вистина позитивни, 3 биле лажно позитивни, 3 лица лажно негативни и 3 лица биле класифицирани како точно негативни. Анализата покажа дека кај преканцерозите, за Toluidine blue, сензитивноста изнесува 87,50%, специфичноста е 50%, позитивната предиктивна вредност е 87,50%, а негативната предиктивна вредност 50%. Точноста, односно, веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Toluidine сино изнесува 80% (има значајна дијагностичка вредност). (Табела бр. 13 и 13А и Графикон бр. 13 и 13А)

На табела бр.13А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на Toluidine сино методот, заедно со долната и горната граница на интервалот на доверба од 95%, а на графикон бр. 13А е дадена ROC – кривата.

Табела бр. 13. Дистрибуција на испитаниците со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози според патохистолошки наод и Toluidine сино методот

<i>Toluidine сино</i>		<i>Биопсија</i>	
		+	-
+	24	21	3
-	6	3	3
Вкупно	30	24	6

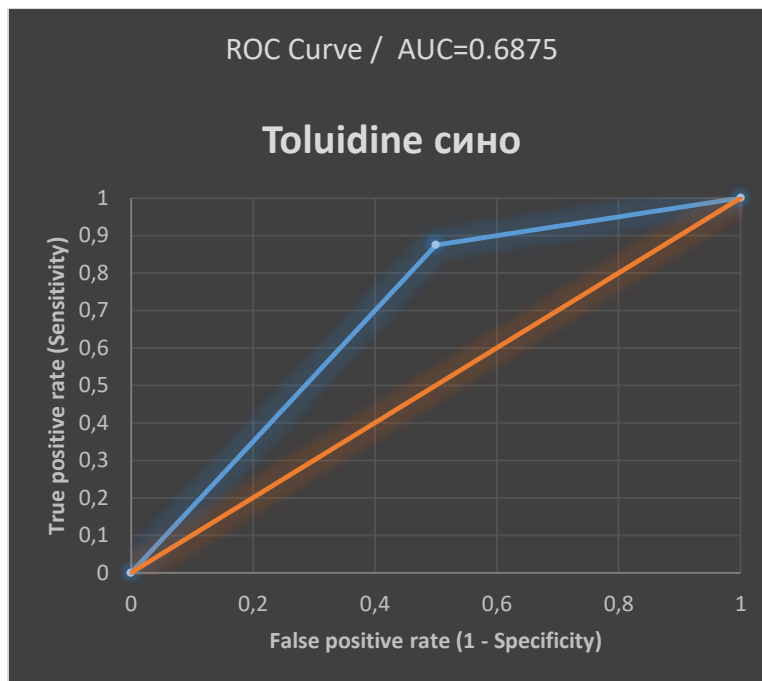
Графикон бр. 13. Дистрибуција на испитаниците со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози според патохистолошки наод и Toluidine сино методот



Табела бр. 13А. Сензитивност и специфичност на Toluidine сино методот кај оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози

<i>Toluidine сино</i>	<i>вредност</i>	<i>CI = 95%</i>
<i>Сензитивност (Se)</i>	87.50%	67.64% to 97.34%
<i>Специфичност (Sp)</i>	50%	11.81% to 88.19%
<i>Позитивна предиктивна вредност (PPV)</i>	87.50%	75.61% to 94.05%
<i>Негативна предиктивна вредност (NPV)</i>	50%	20.97% to 79.03%
<i>Точност (Accuracy)</i>	80%	61.43% to 92.29%

Графикон бр. 13А. ROC крива - Сензитивност и специфичност на Toluidine сино методот кај оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози



AUC	Standard error	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
0.6875	0.0000	0.6875	0.6875

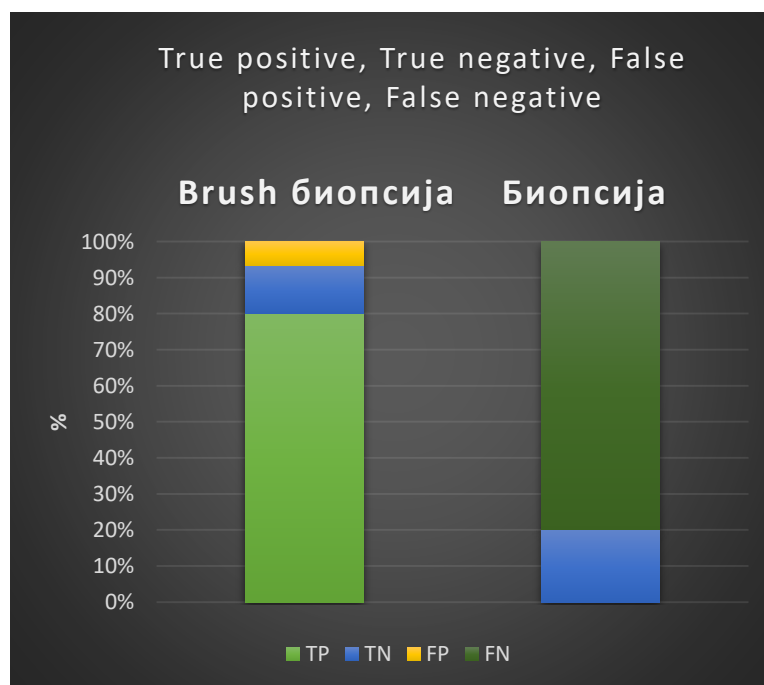
Со Brush биопсија методот, 26 пациенти беа класифицирани како позитивни, од кои 24 беа вистина позитивни, 2 беа лажно позитивни, 0 - нема лажно негативни и 4 лица беа класифицирани како точно негативни. Според тестот кај преканцерозите, за Brush biopsy сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 66,67%, позитивната предиктивна вредност е 92,31%, а негативната предиктивна вредност 100%. Точноста на методот, веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Brush biopsy изнесува 93,33%, односно, методот **има многу значајна дијагностичка вредност**. (Табела бр. 14 и 14А и Графикон бр. 14 и 14А)

На табела бр. 14А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на Brush biopsy методот, заедно со долната и горната граница на интервалот на доверба од 95%, а на графикон бр. 14А е дадена ROC – кривата.

Табела бр. 14 Дистрибуција на испитаниците со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози според патохистолошки наод и Brush биопсија

Brush биопсија		Биопсија	
		+	-
+	26	24	2
-	4	0	4
Вкупно	30	24	6

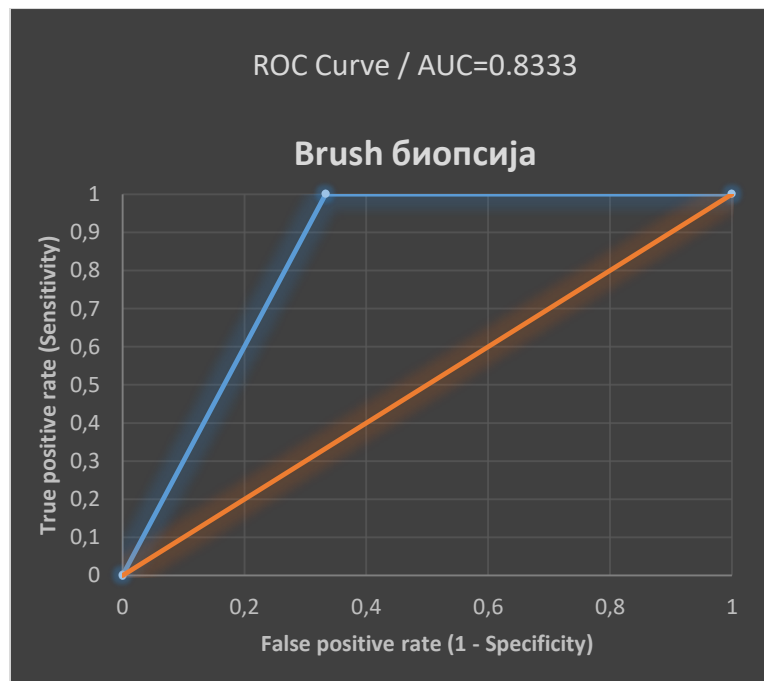
Графикон бр. 14 Дистрибуција на испитаниците со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози според патохистолошки наод и Brush биопсија



Табела бр. 14А. Сензитивност и специфичност на Brush биопсија методот кај оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози

<i>Brush биопсија</i>	<i>вредност</i>	<i>CI = 95%</i>
<i>Сензитивност (Se)</i>	100%	85.75% to 100%
<i>Специфичност (Sp)</i>	66.67%	22.28% to 95.67%
<i>Позитивна предиктивна вредност (PPV)</i>	92.31%	79.47% to 97.38%
<i>Негативна предиктивна вредност (NPV)</i>	100%	87.75% to 100%
<i>Точност (Accuracy)</i>	93.33%	77.93% to 99.18%

Графикон бр. 14А. ROC крива - Сензитивност и специфичност на Brush биопсија методот кај оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози



AUC	Standard error	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
0.8333	0.0000	0.8333	0.8333

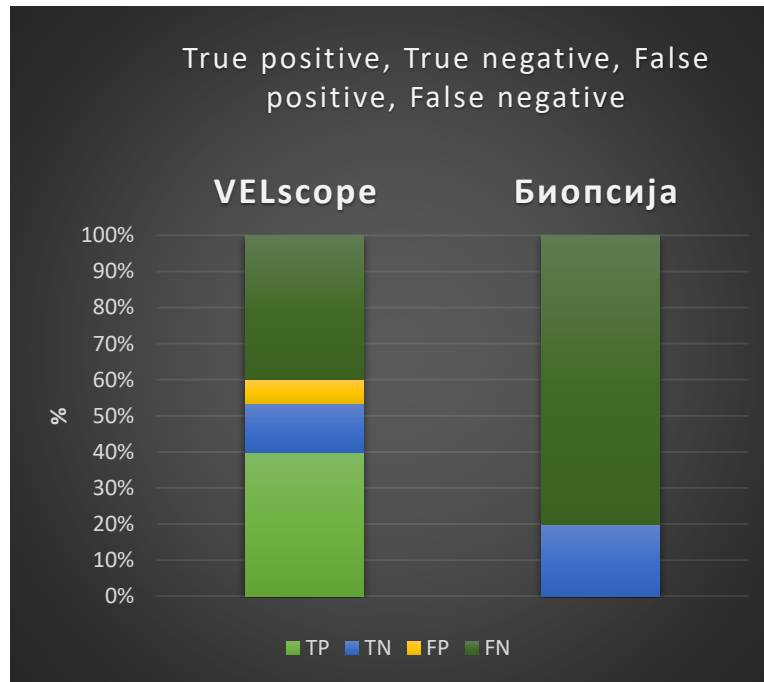
Со VELscope методот, 14 пациенти биле класифицирани како позитивни, од кои 12 биле вистина позитивни, 2 биле лажно позитивни, 12 лица лажно негативни и 4 лица биле класифицирани како точно негативни. Анализата покажа дека кај преканцерозите, за VELscope методот, сензитивноста изнесува 50%, специфичноста е 66,67%, позитивната предиктивна вредност е 85,71%, а негативната предиктивна вредност изнесува 25%. Точност, односно, општа веројатност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со VELscope методот изнесува 53,33%. (Табела бр. 15 и 15A и Графикон бр. 15 и 15A)

На табела бр. 15A се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на VELscope методот, заедно со долната и горната граница на интервалот на доверба од 95%, а на графикон бр. 15A е дадена ROC – кривата.

Табела бр. 15. Дистрибуција на испитаниците со оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози според патохистолошки наод и VELscope методот

<i>VELscope</i>		<i>Биопсија</i>	
		+	-
+	14	12	2
-	16	12	4
Вкупно	30	24	6

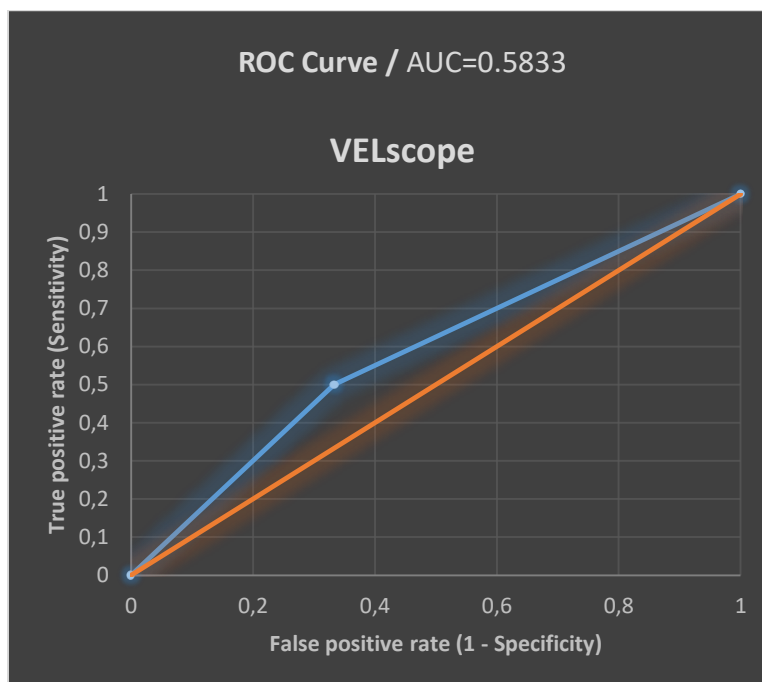
Графикон бр. 15. Дистрибуција на испитаниците со оралните потенцијално малигни лезии – преканцерози според патохистолошки наод и VELscope методот



Табела бр. 15А. Сензитивност и специфичност на VELscope методот кај оралните потенцијално малигни лезии – преканцерози

<i>VELscope</i>	<i>вредност</i>	<i>CI = 95%</i>
<i>Сензитивност (Se)</i>	50%	29.12% to 70.88%
<i>Специфичност (Sp)</i>	66.67%	22.28% to 95.67%
<i>Позитивна предиктивна вредност (PPV)</i>	85.71%	64.37% to 95.22%
<i>Негативна предиктивна вредност (NPV)</i>	25%	14.29% to 40%
<i>Точност (Accuracy)</i>	53.33%	34.33% to 71.66%

Графикон бр. 15А. ROC крива - Сензитивност и специфичност на VELscope кај оралните потенцијално малигни лезии – преканцерози

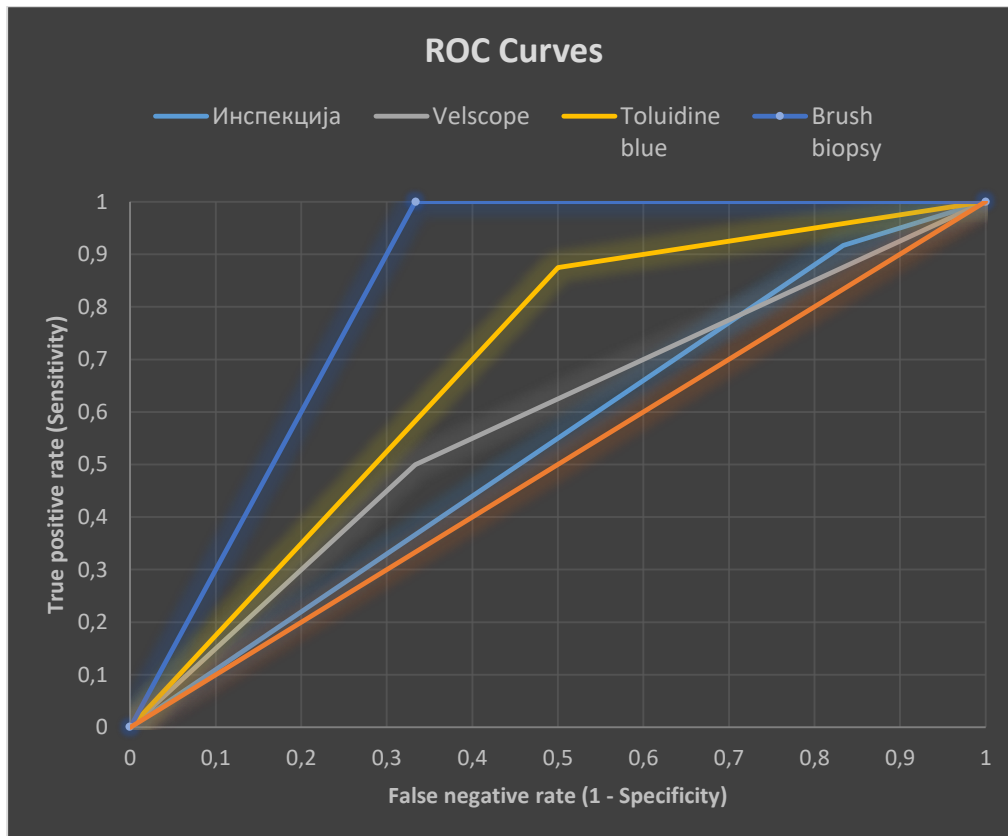


AUC	Standard error	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
0.5833	0.0000	0.5833	0.5833

На графикон број 16 се прикажани ROC – кривите од сите испитувани методи кај оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози (ПК). Резултатите од тестот на сензитивност и специфичност, како и ROC – кривите покажуваат дека методот на Brush биопсија има најзначајна дијагностичка вредност (99,33%). Значајни се и дијагностичките вредности на Toluidine blue (80%) и КОП (76,67%), додека VELscope методот при најмала / најслаба дијагностичка вредност (53,33%). За значајна точност на тестот, односно, методот кој се испитува, се смета вредноста над 75%, па ако примерокот на испитување е поголем, ќе се добие точност од над 75%.

Од анализите произлегува дека **КОП во комбинација со скрининг методот на Brush биопсија, е најефикасен во дијагностицирањето на преканцерозите.**

Графикон бр. 16. Споредба на ROC – кривите од сите испитувани методи кај оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози



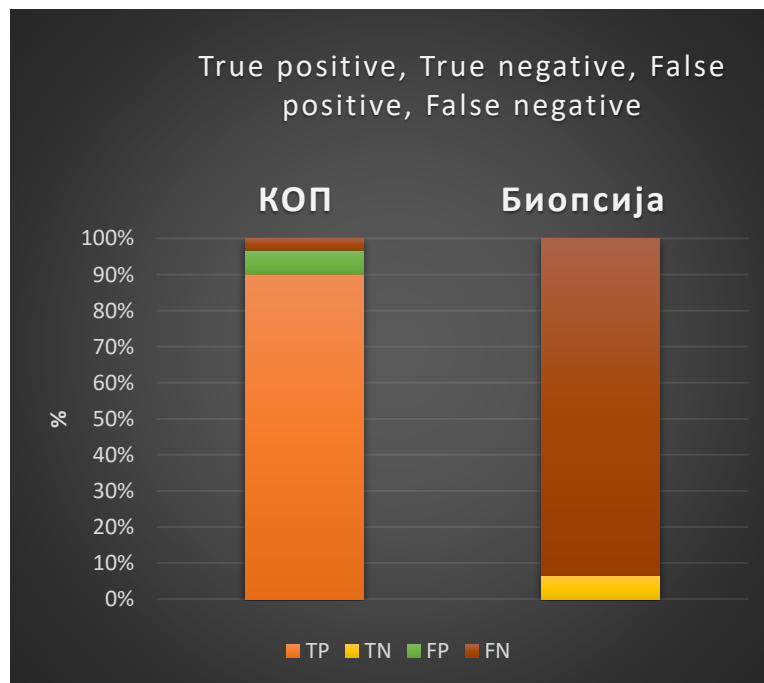
Кај оралните лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК), вклучени во групата N2, резултатот од патохистолошкиот наод (од биопсијата) бил позитивен кај 28 пациенти, а негативен кај 2 лица. При инспекција 29 пациенти биле класифицирани како позитивни, од кои 27 биле вистина позитивни, 2 биле лажно позитивни, а 1 лице лажно негативно. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за КОП, сензитивноста изнесува 96,43%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 93,10% а негативната предиктивна вредност 0%. Точност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со КОП изнесува 90%. (Таб. бр. 16 и 16А, Граф. бр. 17 и 17 А)

На табела бр. 16А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста при КОП, со интервалот на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 17А е дадена ROC – кривата.

Табела бр. 16. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) според патохистолошки наод и КОП

	КОП	Биопсија	
		+	-
+	29	27	2
-	1	1	0
Вкупно	30	28	2

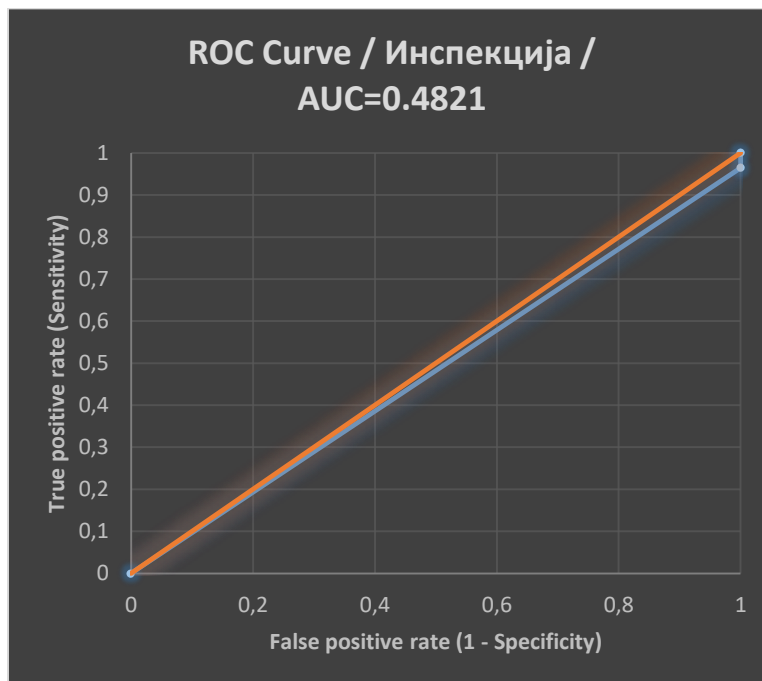
Графикон бр. 17. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) според патохистолошки наод и КОП



Табела бр. 16А. Сензитивност и специфичност на КОП кај оралните лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК)

КОП	вредност	CI = 95%
Сензитивност (<i>Se</i>)	96.43%	81.65% to 99.91%
Специфичност (<i>Sp</i>)	0.00 %	0.00% to 84.19%
Позитивна предиктивна вредност (<i>PPV</i>)	93.10%	92.63% to 93.55%
Негативна предиктивна вредност (<i>NPV</i>)	0.0%	
Точност (<i>Accuracy</i>)	90.00%	73.47% to 97.89%

Графикон бр. 17А. ROC - крива - Сензитивност и специфичност на КОП кај оралните лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК)



	Standard error	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
AUC	0.0000	0.4821	0.4821

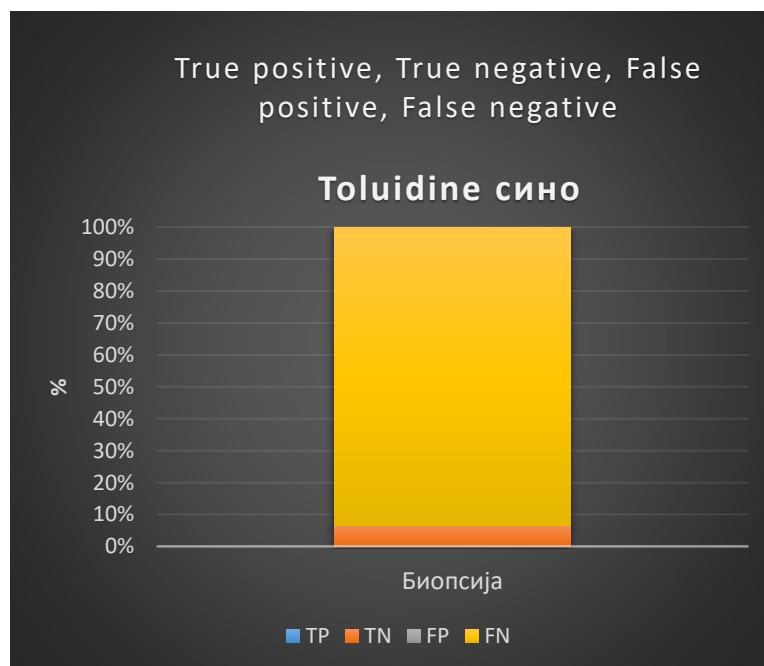
Со Toluidine сино скрининг методот сите 30 пациенти биле класифицирани како позитивни, од кои 28 биле вистина позитивни, а 2 биле лажно позитивни. Анализата со тестот за сензитивност, покажа дека кај оваа испитувана група, за Toluidine сино методот сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 93,33%, а негативната предиктивна вредност е 0%. Точноста / веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Toluidine сино скрининг методот изнесува 93,33%. (Табела бр. 17 и 17А, Графикон бр. 18 и 18А)

На табела бр.18А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на Toluidine сино методот со интервалот на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 18А е дадена ROC – кривата.

Табела бр. 17. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) според патохистолошки наод и Toluidine сино методот

<i>Toluidine сино</i>		<i>Биопсија</i>	
		+	-
+	30	28	2
-	0	0	0
Вкупно	30	28	2

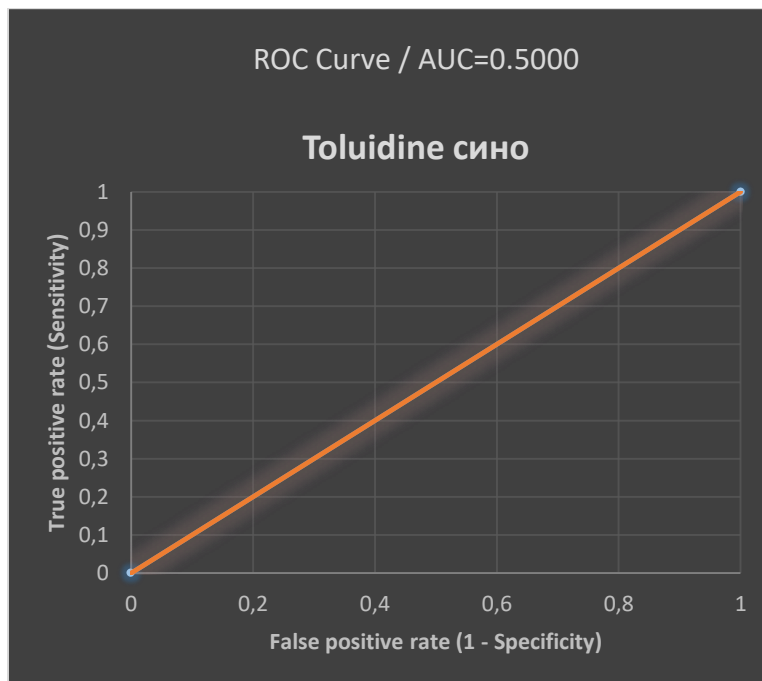
Графикон бр. 18. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) според патохистолошки наод; со Toluidine сино методот сите се +



Табела бр. 17А. Сензитивност и специфичност на Toluidine сино методот кај оралните лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) (Сите се +)

<i>Toluidine сино</i>	<i>вредност</i>	<i>CI = 95%</i>
<i>Сензитивност (Se)</i>	100%	87.66% to 100.00%
<i>Специфичност (Sp)</i>	0%	0.00% to 84.19%
<i>Позитивна предиктивна вредност (PPV)</i>	93.33%	93.33% to 93.33%
<i>Негативна предиктивна вредност (NPV)</i>	0%	
<i>Точност (Accuracy)</i>	93.33%	77.93% to 99.18%

Графикон бр. 18А. ROC - крива - Сензитивност и специфичност на Toluidine blue методот кај оралните лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК)



	Standard error	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
AUC	0.0000	0.5000	0.5000

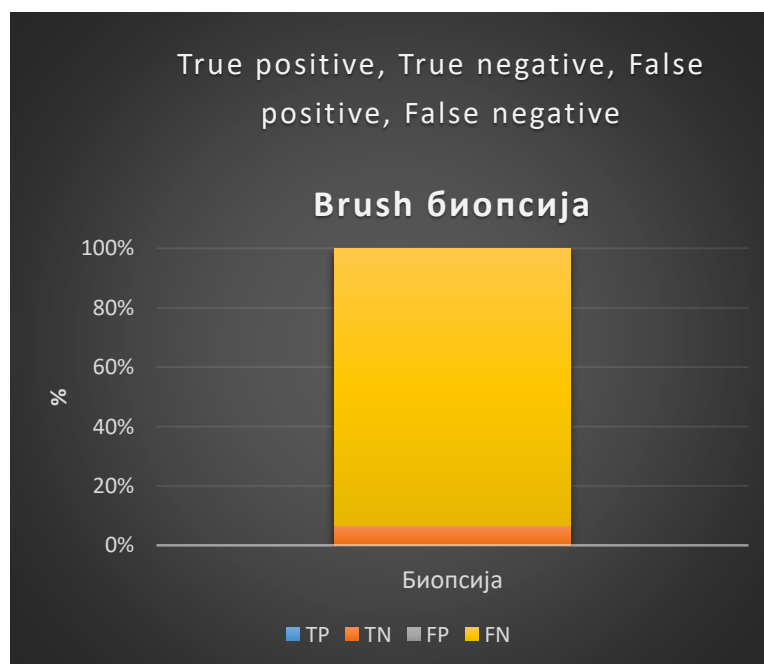
И со Brush биопсија скрининг методот сите 30 пациенти од оваа група (N2) беа класифицирани како позитивни, од кои 28 беа вистина позитивни, а 2 беа лажно позитивни. Анализата со тестот за сензитивност, покажа дека кај оваа испитувана група и за Brush биопсија методот сензитивноста е 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 93,33%, а негативната предиктивна вредност е 0%. Точноста / веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Brush биопсија е идентична со Toluidine сино скрининг методот и изнесува 93,33%. (Таб. бр. 18 и 18А, Граф. бр. 19 и 19А)

На табела бр. 18А се дадени вредностите на Se, Sp, PPV, NPV и точноста на Brush биопсија методот со интервалот на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 19А е дадена ROC – кривата.

Табела бр. 18. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) според патохистолошки наод и Brush биопсија скрининг методот

<i>Brush биопсија</i>		<i>Биопсија</i>	
		+	-
+	30	28	2
-	0	0	0
Вкупно	30	28	2

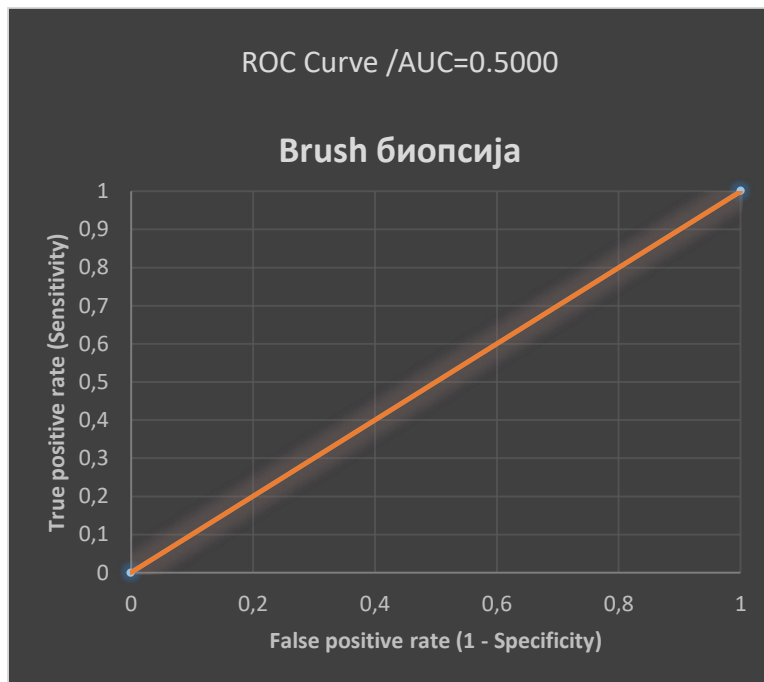
Графикон бр. 19. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) според патохистолошки наод; со Brush биопсија методот сите се +



Табела бр. 18А. Сензитивност и специфичност на Brush биопсија методот кај орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) (Сите се +)

<i>Brush биопсија</i>	<i>вредност</i>	<i>CI = 95%</i>
<i>Сензитивност (Se)</i>	100%	87.66% to 100.00%
<i>Специфичност (Sp)</i>	0%	0.00% to 84.19%
<i>Позитивна предиктивна вредност (PPV)</i>	93.33%	93.33% to 93.33%
<i>Негативна предиктивна вредност (NPV)</i>	0%	
<i>Точност (Accuracy)</i>	93.33%	77.93% to 99.18%

Графикон бр. 19А. Сензитивност и специфичност на Brush биопсија методот кај орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК)



	Standard error	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
AUC	0.0000	0.5000	0.5000

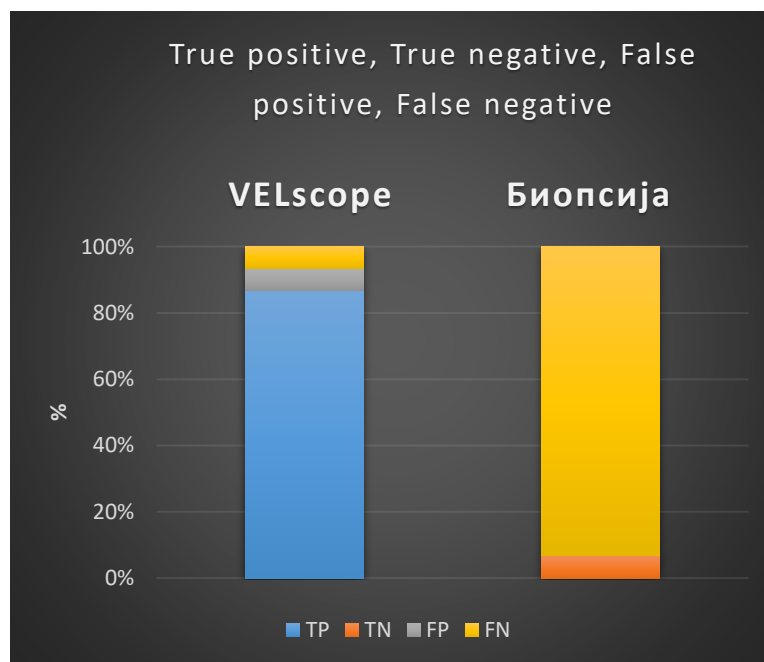
Со VELscope скрининг методот 28 пациенти биле класифицирани како позитивни, од кои 26 биле вистина позитивни, 2 биле лажно позитивни, а 2 лица лажно негативни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група (N2), за VELscope методот, сензитивноста изнесува 92,86%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 92,86% а негативната предиктивна вредност 0%. Точност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со VELscope скрининг методот изнесува 86,67%. (Табела бр. 19 и 19А, Графикон бр. 20 и 20А)

На табела бр. 19А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на VELscope методот со интервалот на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 20А е дадена ROC – кривата.

Табела бр. 19. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) според патохистолошки наод и VELscope методот

	VELscope	Биопсија	
		+	-
+	28	26	2
-	2	2	0
Вкупно	30	28	2

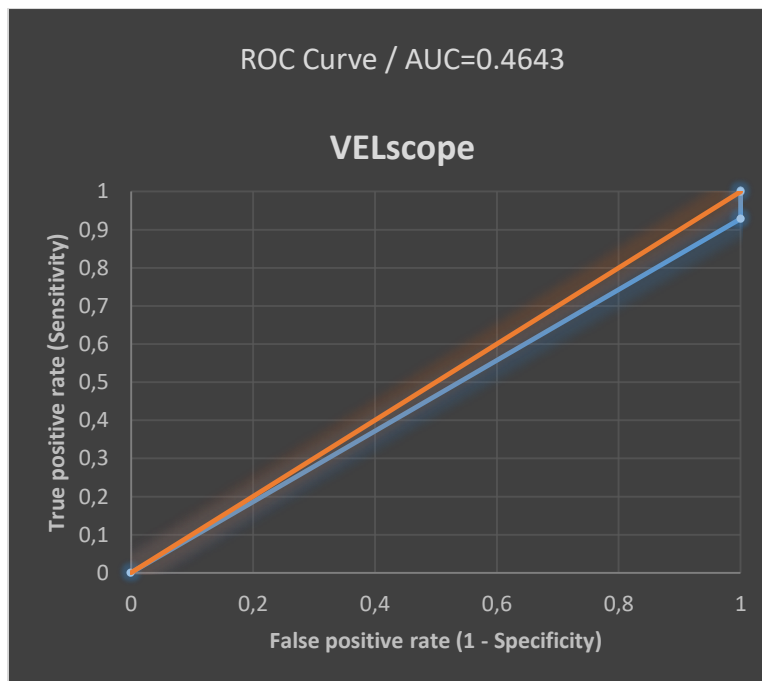
Графикон бр. 20. Дистрибуција на испитаниците со лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) според патохистолошки наод и VELscope методот



Табела бр. 19А. Сензитивност и специфичност на VELscope методот кај орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК)

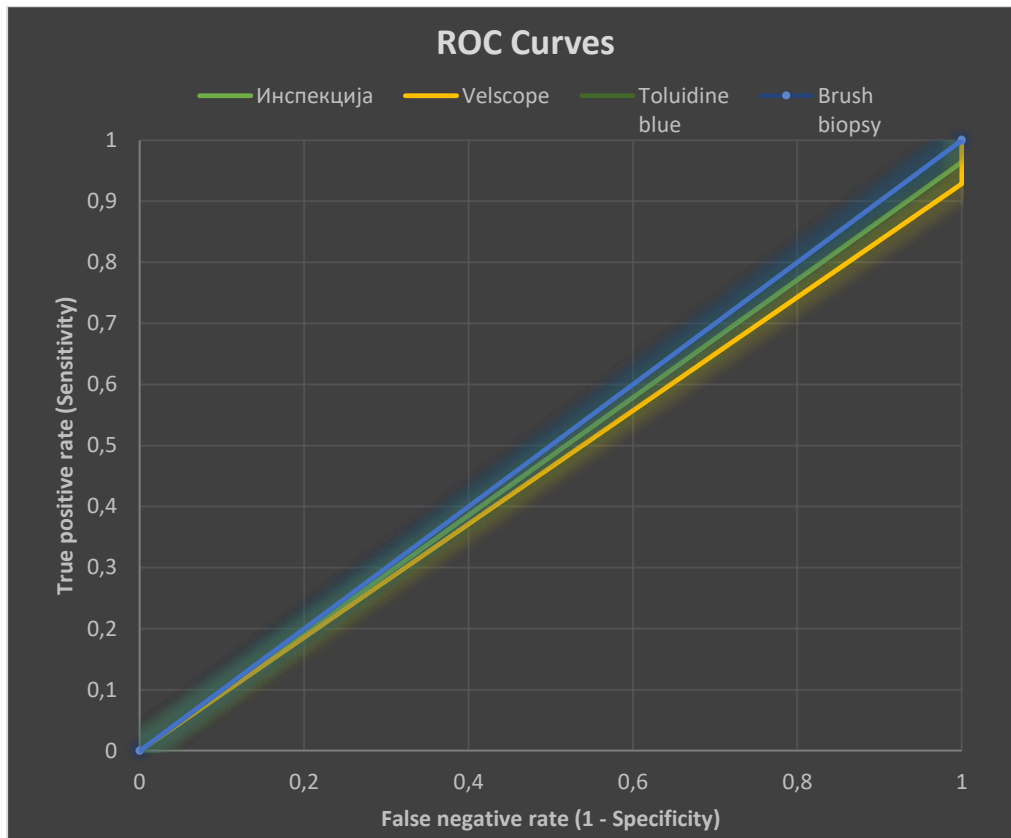
<i>VELscope</i>	<i>вредност</i>	<i>CI = 95%</i>
<i>Сензитивност (Se)</i>	92.86%	76.50% to 99.12%
<i>Специфичност (Sp)</i>	0%	0.00% to 84.19%
<i>Позитивна предиктивна вредност (PPV)</i>	92.86%	92.15% to 93.51%
<i>Негативна предиктивна вредност (NPV)</i>	0%	
<i>Точност (Accuracy)</i>	86.67%	69.28% to 96.24%

Графикон бр. 20А. ROC - крива - Сензитивност и специфичност на VELscope методот кај орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК)



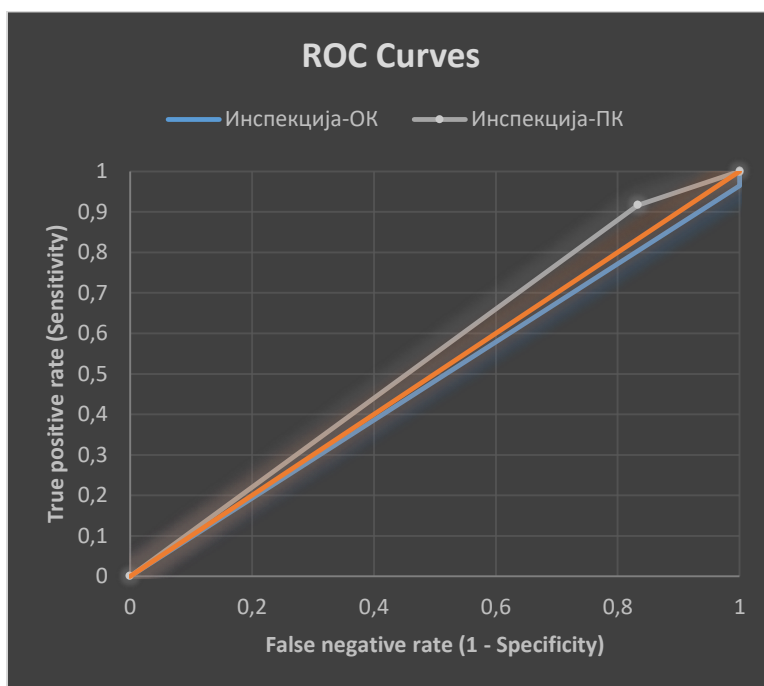
	Standard error	Lower bound (95%)	Upper bound (95%)
AUC	0.0000	0.4643	0.4643

Графикон бр. 21. Споредба на ROC – кривите од сите испитувани методи кај оралните лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК)

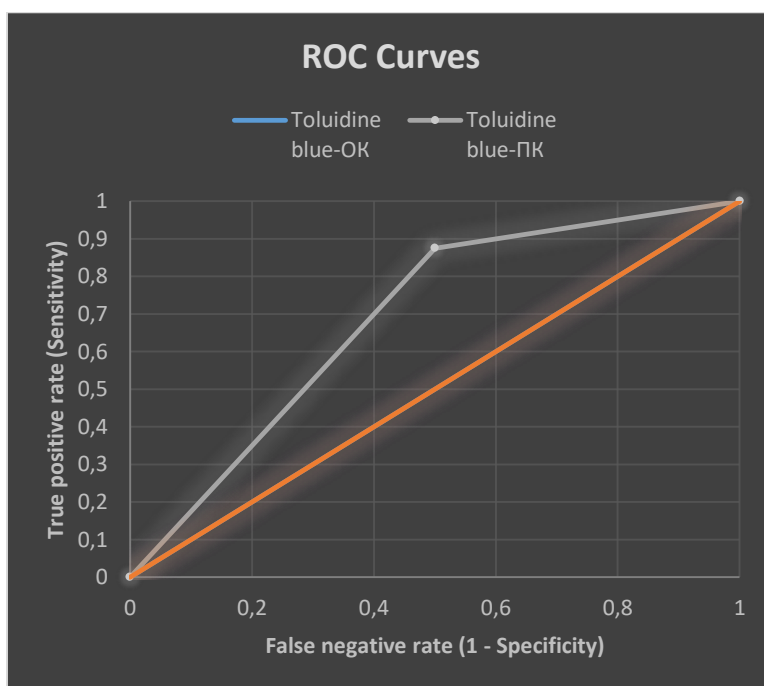


МЕЃУСЕБНА СПОРЕДБА НА СЕКОЈА ОД МЕТОДИТЕ КАЈ ГРУПИТЕ ИСПИТАНИЦИ N1 И N2:

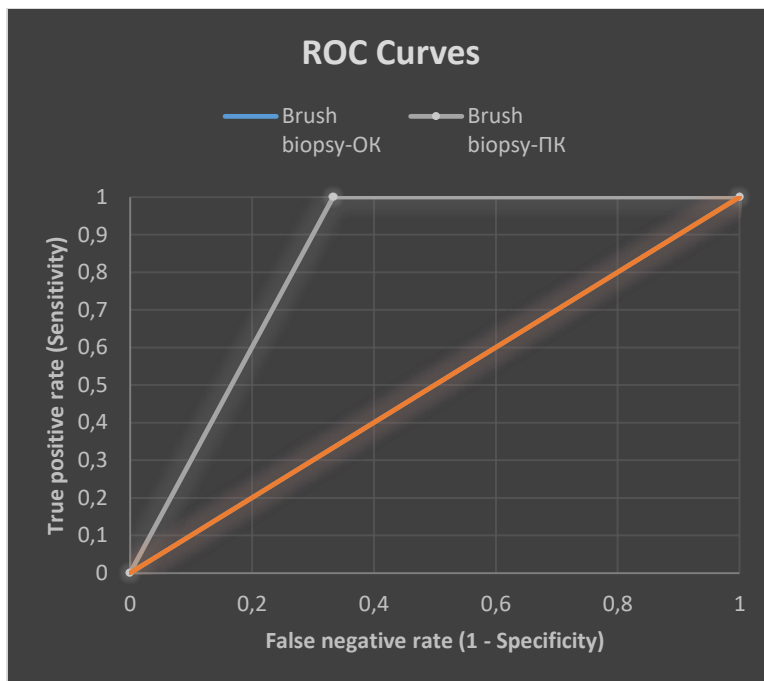
Графикон бр. 22. Споредба на ROC – кривите од методот КОП кај групите испитаници N1 и N2



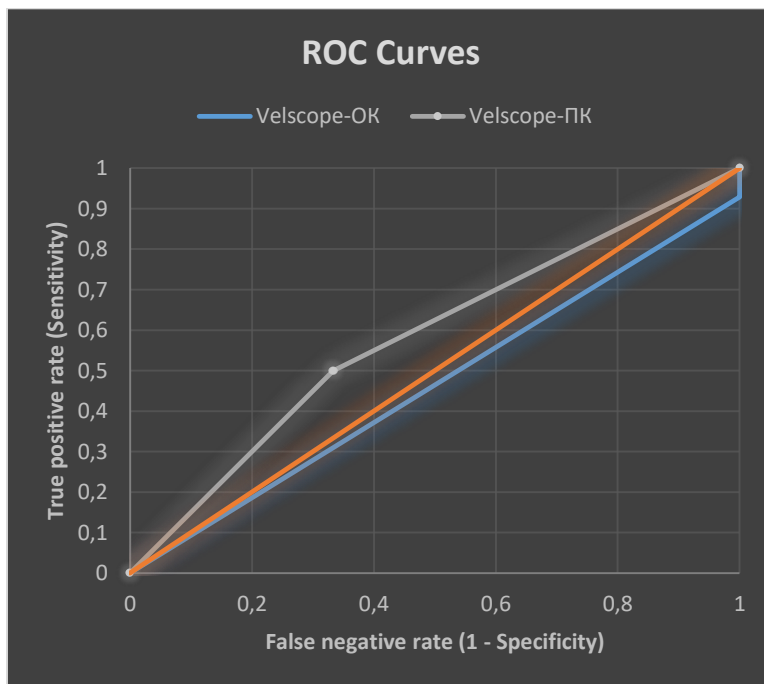
Графикон бр. 23. Споредба на ROC – кривите од методот Toluidine blue кај групите испитаници N1 и N2



Графикон бр. 24. Споредба на ROC – кривите од методот Brush биопсија кај групите испитаници N1 и N2



Графикон бр. 25. Споредба на ROC – кривите од методот Velscore кај групите испитаници N1 и N2



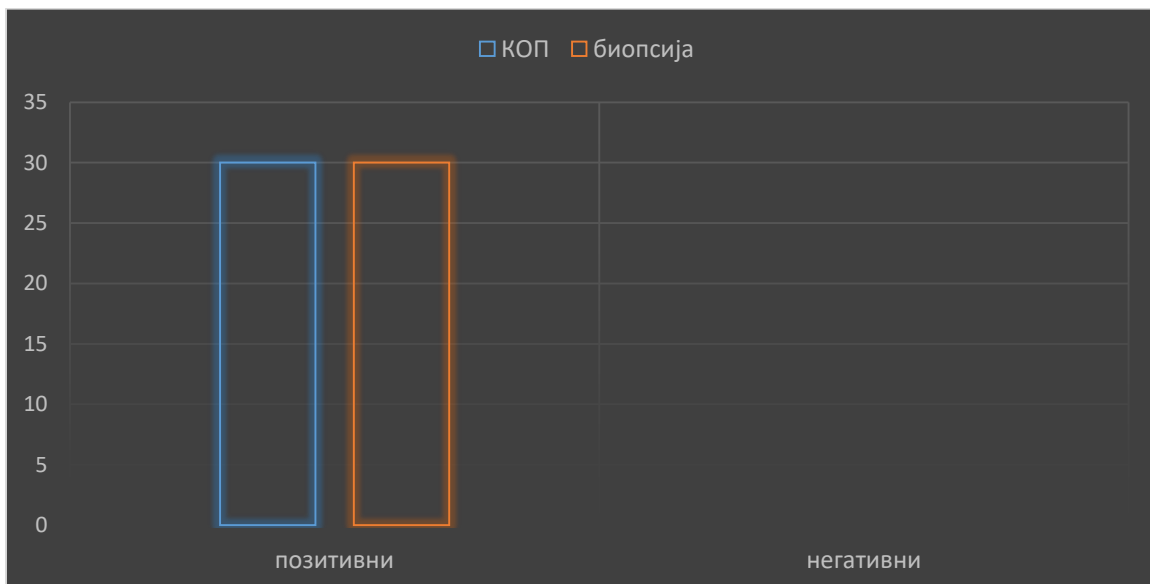
Кај пациентите со орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви, класифицирани во групата N3, резултатот од патохистолошкиот наод (од биопсијата) бил позитивен кај сите 30 (100%) лица. При КОП, односно клинички преглед, сите 30 пациенти биле класифицирани како позитивни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за КОП, сензитивноста изнесува 100,0%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100,0% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот од оваа испитувана група ќе биде правилно класифициран со примена на КОП методот изнесува 100%. (Табела бр. 21 и 21А, Графикон бр. 26)

На табела бр. 21А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност, како и точноста при КОП, со интервалот на доверба од 95% (CI = 95%).

Табела бр. 21. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви според патохистолошки наод и КОП

	КОП	Биопсија	
		+	-
+	30	0	30
-	0	0	0
Вкупно	30	0	30

Графикон бр. 26. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување– локални рецидиви според патохистолошки наод и КОП



Табела бр. 21А. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви според патохистолошки наод и КОП

КОП	вредност	CI = 95%
<i>Сензитивност (Se)</i>	100%	88.43% to 100%
<i>Специфичност (Sp)</i>	0%	
<i>Позитивна предиктивна вредност (PPV)</i>	100%	88.43% to 100%
<i>Негативна предиктивна вредност (NPV)</i>	0%	
<i>Точност (Accuracy)</i>	100%	88.43% to 100%

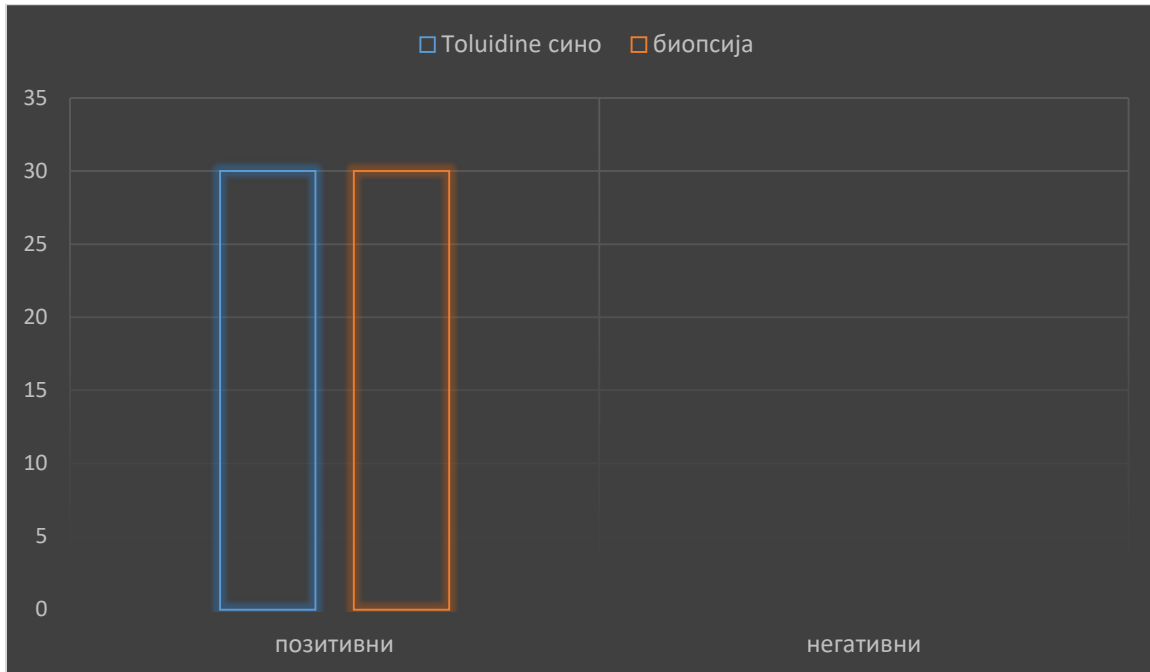
Со Toluidine сино методот, сите 30 пациенти биле класифицирани како позитивни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за Toluidine сино методот, сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот од оваа испитувана група ќе биде правилно класифициран со Toluidine сино изнесува 100%. (Табела бр. 22 и 22А, Графикон бр. 27)

На табела бр. 22А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност, како и точноста на Toluidine сино методот, со интервал на доверба од 95% (CI = 95%).

Табела бр. 22. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви според патохистолошки наод и Toluidine сино методот

Toluidine blue		Биопсија	
		+	-
+	30	30	0
-	0	0	0
Вкупно	30	30	0

Графикон бр. 27. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви според патохистолошки наод и Toluidine сино методот



Табела бр. 22А. Сензитивност и специфичност на Toluidine blue методот кај испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви

<i>Toluidine blue</i>	<i>вредност</i>	<i>CI = 95%</i>
Сензитивност (Se)	100%	88.43% to 100%
Специфичност (Sp)	0%	
Позитивна предиктивна вредност (PPV)	100%	88.43% to 100%
Негативна предиктивна вредност (NPV)	0%	
Точност (Accuracy)	100%	88.43% to 100%

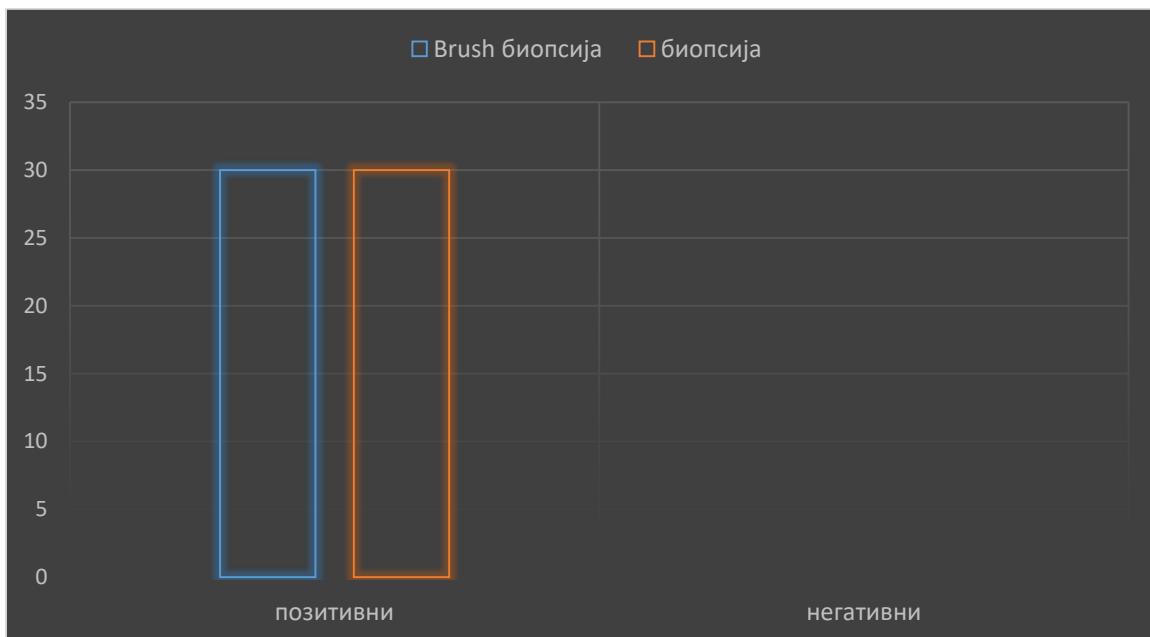
Со Brush биопсија методот на дијагностицирање, сите 30 пациенти биле класифицирани како позитивни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за Brush биопсија методот, сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот со рецидив ќе биде правилно класифициран со Brush биопсија методот изнесува 100%. (Табела бр. 23 и 23А, Графикон бр. 28)

На табела бр. 23А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на Brush biopsy методата, со интервал на доверба од 95% (CI = 95%).

Табела бр. 23. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување според патохистолошки наод и Brush биопсија методот

<i>Brush биопсија</i>		<i>Биопсија</i>	
		+	-
+	30	30	0
-	0	0	0
Вкупно	30	30	0

Графикон бр. 28. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви според патохистолошки наод и Brush биопсија методот



Табела бр. 23А. Сензитивност и специфичност на Brush биопсија методот кај испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви

<i>Brush biopsy</i>	<i>вредност</i>	<i>CI = 95%</i>
<i>Сензитивност (Se)</i>	100%	88.43% to 100%
<i>Специфичност (Sp)</i>	0%	
<i>Позитивна предиктивна вредност (PPV)</i>	100%	88.43% to 100%
<i>Негативна предиктивна вредност (NPV)</i>	0%	
<i>Точност (Accuracy)</i>	100%	88.43% to 100%

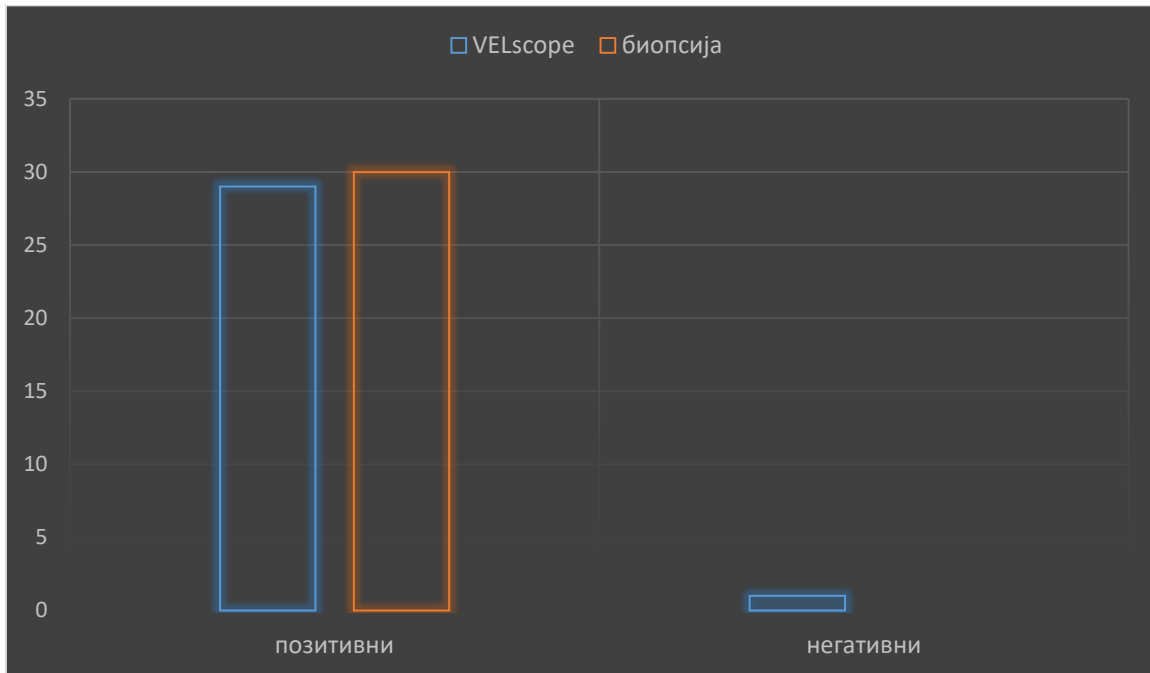
Со VELscope методот, 29 пациенти биле класифицирани како позитивни, а 1 пациент како негативен. Анализата покажа дека кај испитаниците со орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви, за VELscope методот, сензитивноста изнесува 95,83%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот од оваа испитувана група ќе биде правилно класифициран со VELscope методот изнесува 95,83%. (Табела бр. 23 и 23А, Графикон бр. 29)

На табела бр. 23А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност, како и точноста на VELscope методот при интервал на доверба од 95% (CI = 95%).

Табела бр. 23. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви според патохистолошки наод и VELscope методот

<i>VELscope</i>		<i>Биопсија</i>	
		+	-
+	29	29	0
-	1	1	0
Вкупно	30	30	0

Графикон бр. 29. Дистрибуција на испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви според патохистолошки наод и VELscope методот



Табела бр. 23А. Сензитивност и специфичност на VELscope методот кај испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви

<i>VELscope</i>	<i>вредност</i>	<i>CI = 95%</i>
<i>Сензитивност (Se)</i>	95.83%	78.88% to 99.89%
<i>Специфичност (Sp)</i>	0%	
<i>Позитивна предиктивна вредност (PPV)</i>	100%	88.43% to 100%
<i>Негативна предиктивна вредност (NPV)</i>	0%	
<i>Точност (Accuracy)</i>	95.83%	78.88% to 99.89%



ДИСКУСИЈА

Оралниот карцином припаѓа на групата малигноми лесно достапни за рана детекција и скрининг, најпрво поради лесната достапност за изведување на физички преглед во усната празнина, присуството на клинички видливи мекоткивни промени и значајниот ресурс на обучени стоматолози кои рутински вршат преглед на усната празнина. Сепак, голем број пациенти со орален карцином не се дијагностицирани сè до напредниот стадиум на заболувањето. Неуспехот да се идентификуваат и дијагностицираат почетните премалигни и раните канцерозни орални лезии произлегува од мноштво фактори. Овие вклучуваат недостиг на јавна свест за знаците, симптомите и опасностите кои ги носи оралниот карцином, недоволната свесност и обука на давателите на здравствени услуги при изведување на дијагностичките постапки за откривање на оралниот карцином, недоволното познавање на различните ентитети и потешкотии во разликувањето на понекогаш суптилните знаци поврзани со раните неопластични промени од повеќе вообичаени бенигни и воспалителни лезии ¹⁴⁹⁻¹⁵³.

Стандардниот метод за скрининг за орален карцином зависи во голема мерка од клиничкото искуство на испитувачот за да препознае сомнителни лезии за време на конвенционалниот орален преглед (КОП). Иако стоматолозите и лекарите често ја испитуваат усната празнина, најголемиот број стоматолози не поминуваат ниту базична обука за орална онкологија, а лекарите често пати имаат премногу мало искуство или обука за техниките и постапките за орална егзаминација ¹⁵⁴. Студиите докажуваат дека многу студенти по општа и дентална медицина, како и лекари со пократок или подолг професионален стаж, не сметаат дека се соодветно обучени за детекција и дијагностицирање на орална неоплазија, па многу пациенти, вклучително и оние во

категиите со висок ризик, рутински не се подложуваат на редовни орални прегледи ¹⁵⁴⁻

¹⁵⁷. Покрај тоа, доказите за скрининг програми изведувани во различни географски региони низ целиот свет кои се базираат на визуелен орален преглед, покажуваат променливо ниво на ефикасност ^{158,159}.

Општо земено, детекцијата на дисплазија и инвазивен карцином се зголемува при скрининг програмите кои се изведуваат кај високо ризичните популациони групи. Во овој момент, сепак, не постои убедлив доказ кој докажува дека масовниот скрининг за орален карцином врз општата популација е целосно ефикасен начин за подобрување на стапката на преживување ^{160,161}.

Во стручната и научна литература се среќаваат мноштво помошни средства за детекција и дијагностика на потенцијално малигните и малигни орални лезии, главно поради неуспехот од визуелна дистинкција на суспектните орални промени, кои често се инкорпорирани или ги надополнуваат познатите дијагностички протоколи.

Менаџирањето и лекувањето на пациентите со орални премалигни лезии претставува предизвик но понекогаш може да биде и контроверзно. Стратегиите за менаџмент на пациенти со орални премалигни лезии може да се категоризираат во три групи: опсервација, медицинска терапија (т.е. хемопревенција) и хируршко отстранување или аблација ¹⁶². Повеќето орални лезии се асимптомни и не попречуваат ниту една од вообичаените функциите на пациентот. Затоа, примарна цел во менаџирањето на овие пациенти е да се открие предикторот и да се оневозможи развојот на карцином. Со оглед на тоа што повеќето орални потенцијално малигни лезии никогаш не напредуваат во малигноми и дека во моментов не постои сигурен метод за да се предвиди дали одредена лезија ќе претрпи малигна трансформација, важно е лекарот внимателно да ги следи промените и да ги одмери ризиците и соодветно да превземе терапевтски постапки. Треба да се потенцира, сепак, дека „негативен“ (отсутен знак за дисплазија) патолошки резултат не ја исклучува можноста за диспластични промени на оралната слузокожа, заради присуството на т.н. „прескокнувачки“ области на дисплазија кои граничат со хистолошки нормални ареи, како и ризик од грешка при земањето на биоптичните примероци, а истотака и недостаток на униформност кај патолозите при дијагностицирање на дисплазија

¹⁶³. Затоа, познавањето на потеклото и еволутивниот тек на оралните премалигни лезии и добрата и навремена клиничка проценка остануваат клучни компоненти во управувањето со овие пациенти.

Последниве години драматично е унапредена перцепцијата за важноста од вклучување на нови софистицирани методи во детекцијата и раното дијагностицирање на потенцијалните орални премалигни лезии и малигни заболувања во оралниот медиум. Во недостаток на посуптилни студии кои ќе ја елаборираат партиципацијата на релевантните методи и техники за рана дијагностика на овие заболувања, кои како скрининг процедури треба да го завземат своето место во секојдневната стоматолошка пракса, ние во нашата студија ги вклучивме токму тие чинители: прецизно одредување на можностите и ограничувањата на четири различни видови техники за детекција и дијагностицирање на орални премалигни лезии и орален карцином преку одредување на сензитивност, специфичност, позитивни и негативни предиктивни вредности, точноста на методот, како и нивната споредба со златниот стандард – хируршка биопсија.

Истражувањето вклучи 120 испитаници поделени во две групи: испитувана и контролна група. Испитуваната група ја сочинуваа 90 пациенти поделени во три подгрупи со дијагностицирани потенцијално малигни орални лезии - преканцерози (N1), орални лезии високо суспектни за карцином – ОСЦК (N2) и орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви (N3). Утврдените демографски карактеристики откриваат дека од вкупно 90 испитаници, 49 (54,4%) беа мажи, а 41 (45,6%) од женски пол. Во однос на полот постои значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 10,986$ $p=0,0041$) (Табела бр. 1 и Графикон бр. 1). Во групата на преканцерози (N1) има значајно повеќе жени, во однос за втората испитувана група (N2), за $p = 0,0265$ како и во однос на третата испитувана група (N3) за $p = 0,0077$.

Помеѓу втората и третата група на испитаници, нема значајна разлика во однос на полот ($p = 0,6573$). (Табела бр. 1A)

Просечната возраст на вкупниот број на испитаници вклучени во истражувањето ($N = 90$) изнесуваше $65,3 \pm 13,2$ години. Просечната возраст на пациентите со преканцерози изнесуваше $59 \pm 13,7$ години, на пациентите со лезии високо суспектни за карцином $66,6 \pm$

12,2 години, а кај пациентите со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување просечната возраст изнесуваше $70,3 \pm 11,5$ години. Во однос на возраста има значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (One-way ANOVA: $F = 6,352$ $p = 0,00266$). (Табела бр. 2 и Графикон бр. 2)

Пациентите со орални потенцијално малигни лезии (N1) се помлади во однос на пациентите од втората испитувана група (N2), разликата не е значајна – вредноста е гранична ($p = 0,0553$), но се значајно помлади во однос на пациентите со локални рецидиви (N3) за $p = 0,0022$.

Помеѓу втората и третата група на испитаници, нема значајна разлика во однос на возраста на пациентите ($p = 0,4829$). (Табела бр. 2A)

Според професионалниот статус најголем број на испитаници во групата (N1) беа вработени – 14 (46,7%), а 10 (33,3%) беа пензионери. Во (N2) групата, 15 (50%) пациенти беа пензионери, а 13 (43,3%) беа вработени. Од испитаниците со локални рецидиви (N3), најголем број – 18 (60%) беа пензионери, 8 (26,7%) лица беа во работен однос, а 4 (13,3%) лица беа невработени. Во однос на професионалниот статус на испитаниците нема значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 4,588$ $p = 0,1008$). (Табела бр. 3 и Графикон бр. 3)

Од вкупно 90 испитаници кои ги вклучивме во истражувањето, 69 (76,7%) лица живеат во урбана, а 21 (23,3%) лице во рурална средина. Во однос на местото на живеење на пациентите нема значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 3,317$ $p = 0,1904$). (Табела бр. 4 и Графикон бр. 4)

Во нашето истражување ја вклучивме и евалуацијата на двата најзначајни (етаблирани) ризик фактори во етиологијата на оралните премалигни и малигни заболувања - пушењето и консумацијата на алкохолни пијалоци. Навика за пушење цигари потврдија 38 (42,2%) лица од вкупниот број на испитаници. Во сите три испитувани групи, процентот на непушачи, односно, пушачи е речиси еднаков. Во однос на навиката за пушење цигари нема значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 0,360$ $p = 0,8351$). (Табела бр. 5 и Графикон бр. 5) Навика за консумирање на алкохол (во количество поголемо од 0,5 l дневно) потврдија 52 (57,8%) лица од вкупниот број на

испитаници. Во сите три испитувани групи, процентот на лицата кои консумираат алкохол е скоро идентичен. Во однос на навиката за консумирање на алкохолни пијалоци нема значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 0,360$ $p=0,8351$). (Табела бр. 6 и Графикон бр. 6)

Посебно внимание во нашата студија беше насочено кон нотирање на промени на останати места во усната празнина. Вакви промени утврдивме кај 12 (40%) пациенти од (N1) групата, додека во групата со лезии високо суспектни за карцином (N2), како и во групата со локални рецидиви (N3), промени на останати места беа регистрирани кај 7 (23,3%) лица. Во однос на промените на останати места во усната празнина кај испитаниците, нема значајна разлика помеѓу трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 2,674$ $p=0,2626$). (Табела бр. 7 и Графикон бр. 7)

Просечното времетраење на лезијата до јавување на преглед кај вкупниот број испитаници вклучени во истражувањето ($N = 90$) изнесуваше $2,6 \pm 1$ месец. Перзистенцијата на лезијата кај групата (N1) пациенти со преканцерози изнесуваше $2,6 \pm 1,3$ месеци, кај пациентите со орален карцином (N2) $2,7 \pm 0,8$ месеци, а кај пациентите со локални рецидиви од (N3) групата $2,7 \pm 0,9$ месеци. Во однос на времетраењето на лезијата, нема значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 0,711$ $p = 0,7009$). (Табела бр. 8 и Графикон бр. 8)

Постоење на претходна лезија на оралната лигавица претставува значаен фактор кој влијае врз морфолошки променетото ткиво, при што постои поголема веројатност од појава на орален карцином во споредба со непроменетите ткива од соседните региони. Вакви лезии потврдија 5 (16,7%) пациенти од (N1) групата, а во (N2) групата 6 (20%) пациенти. Сите испитаници со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување (N3), потврдија постоење на претходна лезија во минатото. Во однос на овој параметар, има значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 53,249$ $p=0,00001$). (Табела бр. 9 и Графикон бр. 9) Добиените податоци укажуваат на значајно помалку постоење на претходна лезија кај групата со потенцијално малигни орални лезии (N1) во однос на третата испитувана група (N3) за $p = 0,00001$, како и помеѓу втората и третата група на испитаници, за $p = 0,00001$. Статистички значајна разлика не беше

евидентирана само помеѓу пациентите од групата на преканцерози (N1) и пациентите од втората испитувана група (N2), ($p = 0,8244$).

Еден од факторите во оралниот кавум кој придонесува за пореметување на архитектониката, нарушување на меѓувличните односи и морфо-функционалните карактеристики, како и потенцирање на негативните трауматски сили при актот на мастикацијата е загубата на забите. Во групата со орални потенцијално малигни лезии (N1), постоење на тотална беззабост нотиравме кај 4 (13,3%) пациенти, а во групата (N2) кај 9 (30%) пациенти. Кај испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – групата (N3), тотална беззабост беше регистрирана кај две третини од пациентите – 20 (66,7%). Во однос на тоталната и парцијалната беззабост, констатирана е значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 19,020$ $p=0,0001$). (Табела бр. 10 и Графикон бр. 10)

Помеѓу пациентите од групата на преканцерози (N1) и пациентите со орален карцином - втората испитувана група (N2), нема значајна разлика во однос на парцијалната и тоталната беззабост ($p = 0,2675$). Значајно помалку лица со тотална беззабост, односно, значајно повеќе лица со парцијална беззабост има во групата (N1), во однос на третата испитувана група (N3) со присутни локални рецидиви за $p = 0,00038$. Исто така и во втората група на испитаници, има значајно помалку лица со тотална, односно, значајно повеќе лица со парцијална беззабост во однос на испитаниците од третата група за $p = 0,0147$. (Табела бр. 10А)

Посветеноста на испитаниците кон оралното здравје и практикувањето на орално хигиенските мерки исто така беа дел од ажурираните податоци кај испитуваниот примерок. Просечниот ОХИ индекс кај вкупниот број на испитаници ($N = 90$) изнесуваше $2,88 \pm 0,32$. Просечниот ОХИ индекс кај пациентите од првата група изнесуваше $2,77 \pm 0,97$. Кај пациентите со лезии високо суспектни за карцином, ОХИ индексот изнесуваше просечно $2,97 \pm 0,93$, а кај пациентите од третата испитувана група изнесуваше $2,92 \pm 0,84$. Во однос на ОХИ индексот, нема значајна разлика помеѓу пациентите од трите испитувани групи (Kruskal-Wallis ANOVA: $H = 0,026$ $p = 0,9872$). (Табела бр. 11 и Графикон бр. 11)

7.1. Конвенционален орален преглед (КОП)

Клиничкиот орален преглед е стандарден критериум за иницијална детекција на орални лезии со присуство на дисплазија или орален карцином (ОСЦК) во рана фаза, кога се најпогодни за третман. Тековното (актуелно) упатство за откривање на ОСЦК и ОПМН ја препорачува конвенционалната орална егзаминација, која вклучува визуелно испитување под бела (нормална) светлина и тактилна палпација. Клиничката инвестигација се смета за еден од најдобрите, најбрзи и најевтини модалитети за проценка на состојбата на оралните меки ткива ⁸⁶. Раните фази на заболувањето се најтешки за детекција, бидејќи лезијата може да не биде видлива и промените во бојата не се разликуваат многу од бојата на околната мукоза. Така, идентификувањето клинички сомнителни/невидливи лезии се квалификува со голема веројатност при што дијагнозата најсигурно може да се потврди со биопсија уште во раните фази ¹⁶⁴. Сегашната цел на Меѓународната агенција за истражување на ракот, Американското канцер здружение и СЗО е да се намалат предвидените 15 милиони случаи на карцином за една третина, преку дијагностицирање и лекување на овие видови карцином во нивните пред-неопластични нивоа. Оралниот карцином е идеален избор за оваа стратегија, бидејќи усната празнина обезбедува лесен пристап за клиничка инспекција, а на развојот на оралниот карцином му претходат видливи мукозни промени ⁴⁴. Сепак, само 40% од оралните карциноми во моментот се дијагностицираат како локализирано заболување, што впрочем ја има иста стапка како онаа на карциномот на дебелото црево ⁴⁴. Иако основниот преглед за рано откривање на оралниот карцином бара само 90 секунди визуелен и тактилен преглед, мал број лекари а особено стоматолози ги спроведуваат овие испитувања ⁵². Истражувањата покажаа дека стоматолозите и другите здравствени работници имаат потреба од системски едукативни надградувања за превенцијата на оралниот карцином и негово рано откривање ⁵³. Клиничарите можат да ги зголемат стапките на преживување ако лезијата се открие во рана фаза или ако прекурзорната лезија (дисплазија) е откриена и третирана пред настанувањето на малигната прогресија ⁵⁴.

Според податоците кои ги добиваме од литературата, премалигните лезии може да се трансформираат во карцином во процент што варира помеѓу 5 и 18% од случаите; оттука, раната идентификација на потенцијално малигните нарушувања е есенцијална за да се спречи појава и развојот на оралните тумори ¹⁶⁵. Раната дијагностика на карциномот значително ги зголемува стапките на преживување и го намалува нарушувањето на здравјето и квалитетот на животот преку спроведување на хируршка терапија ¹⁶⁶⁻¹⁶⁸. Како и да е, и во минатото, но и во моментот повеќето орални карциноми се откриваат во нивната поодмината фаза. Главна причина за ова одложување не е само недостигот на свесност за симптомите и факторите на ризик кај јавноста ¹⁶⁹, туку и недостатокот на превенција и рано откривање од страна на давателите на здравствени услуги ¹⁷⁰. Раното откривање на заболувањето е лимитирано и од недостаток на типични клинички карактеристики, како што се присуство на улцерација, индурација или болка во раните фази на карциномот или пак промени во текстурата, во бојата на оралната мукоза или необјаснета цервикална лимфаденопатија ¹⁷¹. Раните малигни лезии често не се разликуваат од лигавицата со нормален изглед, што ги прави потешки за откривање дури и за искусни истражувачи ¹⁷².

Конвенционалниот орален преглед (КОП) се смета за метод кој спасува живот ¹⁷³, кој се чини дека е поврзан со намалување на смртноста кај пациентите со висок ризик, особено кога се изведува од високо квалификуван персонал ¹⁷⁴. Сепак, постојат докази дека ако КОП се изведува како единствен чекор може да има ограничена вредност како метод за скрининг за орални малигнитети ^{175,176}. Бројни публикации укажуваат на тоа дека КОП може да има ограничена вредност при откривање на преканцерозни лезии ^{59,36}.

Прегледот на Cochrane укажува дека не се предложени доволно докази за примена на КОП во програмите за скрининг на ОСЦК во рамките на популацијата со низок ризик ¹⁷⁷; исто така и друг системски преглед ја илустрираше неефективноста на КОП при откривање на дисплазија и ОСЦК ⁷².

Едно од главните ограничувања е веројатната неможност на општите стоматолози да направат разлика помеѓу бенигните и високоризичните лезии, бидејќи напредните лезии во раната фаза може да не се претставени со своите типични карактеристики ⁷⁰.

Спротивно на овие мислења, објавена е релативно висока стапка на сензитивност и специфичност за КОП ³⁶. Иако изолирано клиничкиот преглед повеќе се користел во минатото и се сметал за прв чекор од дијагностичкиот процес со цел да се дефинира привремена работна дијагноза, која подоцна може да се потврди со понатамошни испитувања, КОП е метод кој е строго зависен од искуството во оралната медицина на клиничарот што го изведува. Класичната презентација на потенцијалното малигно нарушување или раните малигни лезии како црвена или бела лезија, или перзистирачка улцера, прави потешкотии во диференцијалната дијагноза со други бенигни состојби. Во присуство на овие лезии, КОП не е во можност да ги идентификува оние со „висок ризик“ од натамошна прогресија.

Визуелната инспекција често пати не може да направи разлика помеѓу лезиите кај кои веќе постои дисплазија и/или ран карцином од оние што не се подложени на трансформација. Практиката на неправилна проценка на сите сомнителни лезии, односно лезии без специфична етиологија како што се траума или инфекција, секогаш резултира со одложување на правилната дијагноза и ограничување на опциите за третман. За разлика од ткивните промени на други места на телото, суптилните промени на цитолошки абнормалности во оралната мукоза е потешко да се направат ¹³⁶. Со текот на годините се јавува дискурс за вредноста на стандардниот метод за скрининг на оралниот карцином - конвенционалниот орален преглед. Познато е дека со третман на оралниот карцином во рана фаза се постигнува понизок морбидитет и повисоки стапки на преживување; имено, иако потенцијалната придобивка од идентификација на болеста во рана фаза е очигледна, вистинската ефективност со примена само на овој метод останува дискутабилна ¹⁷⁸.

Иако КОП може да биде ефективен како скрининг тест, сепак во праксата се јавуваат многу проблеми со овој пристап. Еден од нив е фактот дека околу 5-15% од општата популација имаат постоечки орални мукозни абнормалности ³⁵⁻³⁷. Меѓутоа, проблемот е што само мал процент на потенцијалните премалигни орални лезии се прогресивни или стануваат малигни, а КОП не може да ги разграничи овие лезии од останатите бенигни лезии. Понатаму, додека КОП може да открие голем број на клинички лезии и мал процент од тие може да покажат хистолошки карактеристики на премалигнитет, неодамнешните податоци

сугерираат дека некои преканцерозни лезии може да се присутни во слузницата која само при КОП изгледа клинички нормално. Овој концепт е поддржан од наодите на Thomson, кој открил дека 9 од 26 последователни пациенти (36%) со ново дијагностициран карцином на главата и вратот (HNSCC) имале хистолошки доказ за дисплазија или микроинвазивен канцер при биопсија од клинички нормална слузница од соодветната, контралатерална анатомска локализација⁶⁹. Од тие причини КОП може да биде корисен при откривањето на некои орални лезии, но тој не ги идентификува сите потенцијално премалигни лезии, ниту пак точно ги открива малите пропорции од биолошки релевантни лезии кои веројатно ќе прогредираат во карцином.

Понатаму, неодамнешните студии укажуваат дека дисплазија или микро-инвазивен карцином може да се појави кај клинички нормална и интактна мукоза¹⁷⁹. Клиничката инвестигација е апсолутно корисна при детекција на оралните лезии, но се чини дека не може точно да ги идентификува лезиите подложни на неопластична трансформација. Во моментот, златниот стандарден дијагностички тест за ОСЦК е орална биопсија со хистопатолошка анализа. За разлика од КОП, ткивната биопсија се предлага само за клинички сомнителни (суспектни) орални лезии¹⁸⁰.

Иако хистолошката биопсија е призната како златен стандард за дијагностицирање на ОСЦК и дисплазија кај ОПМЛ, таа е инвазивна, скапа метода, одзема многу време и е болна за пациентите¹⁸¹. Сепак, постојат некои ограничувања при изведувањето на оваа постапка, како што се несоодветно (неправилно) земањето на примероците, што може да доведе до погрешно дијагностицирање, особено кај мултифокалните лезии¹⁸².

За жал, достапните студии во литературата објавуваат значајна варијабилност во хистолошката дијагностика на дисплазија и ОСЦК, со пријавена стапка од само 56%¹⁸³. Клиничките карактеристики на лезијата, карактеристиките на примерокот, артефактите кои се резултат на кршење, фулгурација или неправилно фиксирање и замрзнување, искуството на патологот и др., може да игра мошне важна улога во одредувањето на дијагнозата^{184,185}. Стадиумот на малигнитет и длабочината на инвазијата во соседните ткивни структури се исто така важни прогностички фактори, под силно влијание од големината и длабочината на материјалот во биоптичниот примерок земен за анализа^{186,187}.

Оттука, методите и алатките кои ги подобруваат дијагностичките способности на стоматолозите и лекарите од примарната здравствена заштита, кои исто така се помалку инвазивни од биопсиите и подобри од интервентните или имиџинг истражувања во секундарната здравствена заштита, сèуште остануваат важни сегменти за истражување на ова поле ¹⁸².

Пристапите за скрининг и откривање на малигни и потенцијално малигни состојби имаат потенцијал драстично да го сменат текот на болеста во усната празнина, но сè уште неможат ефективно да го намалат севкупниот морбидитет и морталитет на оралниот карцином.

Како иницијален и неприкосновен метод во нашето истражување го користевме конвенционалниот орален преглед, со цел да ги утврдиме потенцијалните мукозни отстапувања во оралниот кавум кај сите пациенти од контролната и испитуваните групи. Кај сите пациенти добиените резултати од конвенционалниот клинички преглед ги споредувавме со оние добиени со патохистолошката верификација. Во групата (N1) испитаници со орални потенцијално малигни лезии – преканцерози, резултатите кои ги добивме откриваат дека при КОП 27 пациенти беа класифицирани како позитивни, од кои 22 вистински позитивни, 5 беа лажно позитивни, 2 лица лажно негативно и 1 лице беа класифицирани како точно негативни. Споредено со овие вредности, резултатот од патохистолошкиот наод кај оваа група испитаници беше позитивен кај 24, а негативен кај 6 пациенти. Статистичката анализа покажа дека кај оваа испитувана група, сензитивноста за методот КОП, изнесува 91,67%, специфичноста е 16,67%, позитивната предиктивна вредност е 81,48% а негативната предиктивна вредност изнесува 33,33%. Точност, односно, општа веројатност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со методот на КОП изнесува 76,67% (Табела бр. 12 и 12А, Графикон бр. 12 и 12 А)

На табела бр.12А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на методот КОП, заедно со долната и горната граница на интервалот на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 12А е дадена ROC – кривата за сензитивност и специфичност на конвенционалниот орален преглед – КОП кај оралните лезии за развој на потенцијално

малигни заболувања – преканцерози (N1). Добиените резултати од нашата студија, а особено ниските вредности за точност на методата КОП кои изнесуваа 76,67% го потврдија нашето стојалиште за вклучување на нови и посоефистицирани методи во детекцијата и дијагностицирањето на потенцијалните премалигни и малигни лезии во усната празнина. Во достапната стручна и научна литература сретнавме податоци кои се во согласност со нашите добиени резултати. Во истражувањето на Hanken и сор., кои испитувале 120 пациенти со присуство на орални потенцијално малигни лезии (ОПМЛ), сензитивноста и специфичноста за методот КОП при интервал на доверба од 95% изнесувале 75.9% и 33,3% соодветно ¹⁸⁸. Тие потврдуваат дека методот КОП не е доволно ветувачки во детекција на прекурзорните орални малигни лезии. Истиот селективен критериум-пациенти со присуство на ОПМЛ го вклучуваат во своето истражување Rana и сор. ¹³⁸, кои добиваат вредност од 17% за сензитивност и 97% за специфичност, кои се спротивни од вредностите за сензитивност и специфичност кои ние ги нотиравме во нашето истражување. Најголем недостаток на нивната студијата бил големиот број лажно-позитивни резултати од тестот. Во согласност со нашите резултати се и оние од систематскиот преглед на Downer MC и сор., кои сметаат дека и покрај тоа што конвенционалниот преглед со бела светлина е економичен метод за скрининг на орални лезии, оваа техника останува субјективна и има ограничена сензитивност ³⁶. Само пет други студии утврдиле сензитивност и специфичност на конвенционалниот орален преглед ^{33,61-64}. Четири биле спроведени во земјите во развој кои користат помошен здравствен кадар како испитувачи, а еден бил преземен во Јапонија користејќи општи стоматолози. Во овие студии, најниската специфичност е 75%, но сите други студии 8имаат вредности над 94%. Сензитивноста се движеше од 60% до 97% ⁶¹. Кај популација со низок ризик, скринингот на усната празнина со визуелизација со бело светло покажал вкупна сензитивност од 85% и специфичност од 97%, додека останатите истражувачи прикажуваат вредности од 64% за сензитивност и позитивна предиктивна вредност PPV од 74% ¹⁷⁷. Варијаблите кои влијаат на сензитивност и специфичноста на традиционалните визуелни прегледи со бела (нормална) светлина вклучуваат т.н. индекс на сомневање како и искуството на испитувачот ¹⁸⁹. Потешкотиите за откривање на неопластичните лезии во усната празнина со конвенционалното испитување е дополнето

со постоење "поле на канцеризација" каде до 58% од биопсиите кои се земени од клинички нормална мукоза, се утврдува постоење на хистолошки абнормалности (клеточна атипичност, дисплазија или сквамозно клеточен карцином).

Најголемата студија изведена на Западот се состоела од две пилот програми за скрининг на орален карцином, во кои биле вклучени над 2300 лица кои биле прегледани заради присуство или отсуство на релевантни орални мукозни лезии (црвени или бели лезии или улцерации со времетраење подолго од 2 недели) ^{190,191}. Сите пациенти биле независно прегледани од општ стоматолог и специјалист по орална медицина, со што добиле експертска дијагноза. Иако според мислењето на повеќемината автори ова е веројатно т.н. "мек" стандард, рутинската употреба на потврдна биопсија која обезбедува златен ("тврд") дијагностички стандард, кај пациенти кои се прикажуваат негативни при КОП со клинички нормална орална мукоза, се смета за несоодветно и претставува етички сомнителна практика ³⁶.

Додека со децении КОП традиционално е основа за скрининг на оралниот карцином, нејзината корист останува дискусална. Голем број публикации сугерираа дека КОП може да има ограничена вредност како метод за откривање на преканцерозни или рани канцерозни лезии ⁵⁸⁻⁶⁰.

Доказите во врска со конвенционалниот орален преглед како ефикасна техника на скрининг, сепак, остануваат контроверзни. Во едно објавено рандомизирано клиничко испитување со речиси 130.000 учесници, истражувачите заклучиле дека доказите за поддршка или одбивање на користење на оралниот преглед како скрининг програма биле недоволни ¹⁴. Меѓутоа, оваа студија, спроведена од групата "Керала" во Индија, за 9 години покажала подобрување на стапката на преживување кај мажи со високо ризични навики (употребата на тутун) ¹⁴. Иако не било забележано зголемување на преживувањето за целокупната популација, оваа студија е првата што јасно ја поддржува ефикасноста на програма за скрининг на оралниот карцином кај високо ризичното население. Неодамнешните истражувања водат до заклучок дека иако нема силен директен доказ за бенефит, скринингот од страна на општите стоматолози извршен како дел од редовната

клиничка активност, особено кај лица со висок ризик, би можел да биде економичен и ефективен пристап ⁶⁸.

Времето на преживување е показател за ефикасноста од терапијата, па Кијан и сор., заклучуваат дека не постојат докази за поддршка или отфрлање на користење на визуелното испитување како метод за скрининг за орален карцином ⁶⁵.

Во спротивност со нашите резултати а давајќи му предност на методот конвенционален орален преглед е истражувањето на McNamara и сор., кои укажуваат дека КОП е повалиден во рутинскиот скрининг за орални потенцијално малигни лезии ¹⁹². Тие сметаат дека внимателното, систематско визуелно и тактилно испитување на целокупната орална празнина на редовна основа, останува златен стандард за рано откривање на ОПМЛ. Нивните резултатите сугерираат дека КОП е повалиден метод од директното визуелно флуоресцентно испитување при разграничување на бенигни промени на мукозата од премалигните лезии и не ја поддржуваат употребата на овие визуелни средства како дополнителен метод за скрининг на орален карцином.

Кај втората група испитаници (N2) - пациенти со лезии високо суспектни за карцином, беше спроведено испитување според методот КОП, а добиените наоди беа патохистолошки верифицирани. Резултатот добиен по патохистолошката обработка на биоптичниот материјал беше позитивен кај 28 пациенти, а негативен само кај 2 лица. При конвенционалниот орален преглед од вкупно 30 пациенти, 29 беа класифицирани како позитивни, од кои 27 беа вистина позитивни, 2 лажно позитивни, а 1 лице беше лажно негативно. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група - (N2), за методот КОП, сензитивноста изнесува 96,43%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 93,10% а негативната предиктивна вредност 0%. **Точност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со КОП изнесува 90%.** (Таб. бр. 16 и 16А, Граф. бр. 17 и 17 А) На табела бр. 17А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста при КОП, со интервалот на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 17А е дадена ROC – кривата.

Вака добиените високи вредности за сензитивност која изнесува 96,43%, и точност на методот од 90% во голем дел ја подобрува веродостојноста и ефикасноста на конвенционалниот орален преглед кај пациенти со лезии со високо суспектен потенцијал за малигнитет - орален карцином, за разлика од вредностите кои ги добивме кај првата група испитаници (N1). Кај групата (N1) - испитаници со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози, овие вредности беа пониски, со измерена сензитивност од 91,67%, и значајно пониска точност на методот од 76,67%, што секако овој метод го прави помалку преферабилен избор за дијагностика кај оваа група.

Резултатите кои ги добивме кај третата испитувана група (N3) - пациенти со орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување, откриваат дека наодот од патохистолошката анализа (од биопсијата) беше позитивен кај сите 30 (100%) лица. При КОП, односно клинички преглед, сите 30 пациенти беа класифицирани како позитивни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за конвенционалниот орален преглед-КОП, сензитивноста изнесува 100,0%, додека за специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100,0% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот од оваа испитувана група ќе биде правилно класифициран со примена на КОП методот изнесува 100%. (Табела бр. 21 и 21А, Графикон бр. 21) На табела бр. 21А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност, како и точноста при КОП, со интервалот на доверба од 95% (CI = 95%).

Вредноста која ја добивме за сензитивност на методот КОП кај третата испитувана група е највисока споредена со вредностите кај претходните две групи, N1 каде сензитивноста изнесуваше $Se=91,67\%$ и кај N2, $Se=96,43\%$ што укажува на највисока сигурност при дијагностицирањето на оралните промени кај пациенти со претходно постоечки лезии. Исто така и точноста на методот КОП кај третата испитувана група бележи највисока вредност од 100% во однос на обете групи N1 и N2, со што ја истакнува можноста пациентите од групата N3 да бидат најправилно класифицирани.

Мислењата во литературата по однос на дијагностичката вредноста на конвенционалниот орален преглед се поделени. Во 2004 година, U.S. Preventive Services Task Force (Работната

група за превентивни услуги на САД) не пронајде доволно докази кои го препорачуваат или се против скринингот за орален карцином кај возрасни пациенти ¹⁹³.

И покрај неубедливите (недоволните) податоци дека скринингот за орален карцином открива клинички значајни лезии или го подобрува здравствениот исход кај населението во САД, експертите го препорачуваат визуелниот орален преглед и скринингот врз база на други карактеристики: тестот е неинвазивен, зема релативно малку време за изведување и обезбедува можност да се интервенира во премалигната фаза на болеста ¹¹⁹.

Според Mignogna и Fedele, скринингот за орален карцином се смета за едноставна неинвазивна постапка, за која е потребно само 5 - минутна визуелна инспекција на оралната слузница под нормално осветлување, додека откривањето на други малигни заболувања во нивните рани асимптомни фази скоро секогаш бара посебни, скапи и честопати инвазивни техники. Па оттука, тие го препорачуваат визуелниот скрининг за орален карцином како лесен, ефикасен и економичен (ефтин) метод кој спасува животи ¹⁷³.

Истражувањето на Brocklehurst и сор., изнесува докази дека визуелниот преглед како дел од скрининг програмата на населението може да ја намали стапката на морталитет на орален карцином кај лица со висок ризик и подобрување на стапката на преживување кај населението во целост, сепак доказите се ограничени на само една студија која е поврзана со висок ризик од пристрасност ¹⁷⁷. Ова е надополнето со фактот дека ефектот од рандомизација на испитуваниот примерок не бил земен во предвид во тек на анализата. Понатаму, не биле утврдени цврсти докази за поддршка на употребата на други дополнителни технологии како витално боење со толуидинско сино, орална brush биопсија или флуоресцентно испитување во рамките на примарната здравствена заштита. Авторите препорачуваат дополнителни рандомизирани контролирани испитувања за да се процени ефикасноста, ефективноста и економичноста на визуелниот преглед како дел од програмата за скрининг на населението во земјите со низок, среден и висок приход ¹⁷⁷.

Speight и сор., со симулиран модел демонстрираат дека оралното испитување на лица со висок ризик може да биде ефективна стратегија за скрининг ⁶⁸. Еден неодамнешен ревијален труд за точноста на дијагностичките тестови, во кој се анализира точноста на конвенционалниот орален преглед како скрининг тест во примарната здравствена заштита,

утврди дека вредностите за сензитивност се движат од 50% (95% CI 0,07 до 0,93) до 99% (95% CI 0,97 до 1,00) со проценки за специфичност од 98% (95% CI 0,92 до 1,00) до 99% (95% CI 0,99 до 0,99). Позитивните предвидливи вредности се движеле од 31% до 86%; додека пак негативните предвидливи вредности се движеле во граници од 96% до 99% ¹⁹⁴.

Мета анализата за визуелен скрининг откри вкупна сензитивност од 84,8% (интервал на доверба од 95% (CI) 73.0 до 91.9) и специфичност од 96,5% (95% CI 93.0 до 98.2) ³⁶. Сепак, постои значителна хетерогеност во студиите, како резултат на разликите во големината на целната популација и спорно е дека мета - анализата е несоодветна. Овие вредности за сензитивност и специфичност за визуелно испитување не се надминати со кој било друг вид на метод, како што се самопреглед, витално боење (толуидин сина), орална цитологија или техники засновани на светлина ^{70,86,194}. Ревизијалниот преглед од страна на Walsh и сор., покажува дека вредностите за сензитивност се движат од 18% (95% CI 0,13 до 0,24) до 33% (95% CI 0,10 до 0,65) за самостојно испитување (самопреглед) на устата и вредност за сензитивност од 20% (95% 0,01 до 0,72) за дополнителна употреба на толуидинско сино ^{194,195}. Во систематскиот преглед на Patton, 23 студии ги исполниле критериумите за вклучување, но сепак немало доволно докази за поддршка или одбивање на употребата на помошни техники заедно со визуелниот преглед ⁸⁶. Во друг преглед, Lingen открил дека поголемиот дел од објавените студии ги користеле овие дополнителни техники кај пациенти кои веќе имале дијагноза и дека тие не ја подобриле сензитивноста или специфичноста на визуелниот преглед ⁷⁰.

Резултатите кои ние ги добивме во нашето истражување користејќи го методот КОП се во согласност со оние од студијата на Chang и сор., кои утврдуваат сензитивност од 99% ¹⁹⁶, а се во спротивност со оние на Sweeny и сор., кои нотираат сензитивност од 50% ¹²⁵. Заедничко за двете студии е тоа што специфичноста на методот КОП е висока со вредност од 99% односно 98%. Ниски вредности за дијагностичкиот придонес на конвенционалниот клинички преглед презентираат Marzouki и сор., кои бележат сензитивност од 47% (95% CI 23-72) но по дополнување на методот со VELscope техниката дијагностичкиот придонес бил зголемен за дополнителни 31% (95% CI 11-59) ¹⁴⁶. Сепак, досега нема цврсти докази кои ја

поддржуваат употребата само на визуелниот преглед како метод за скрининг на оралниот карцином ⁶⁵.

Во најновата студија од 2020 година, Wang и сор., не двосмислено го наложуваат протоколот за целосно исцпругување на сите достапни методи за скрининг на оралната слузница и скратување на интервалот од дијагноза до почеток на третман ¹⁹⁷. Во секој случај, конвенционалната визуелна инспекција под нормално блескаво светло, проследена со биопсија од сомнителните лезии, ќе остане златен стандард и во блиска иднина.

7.2. Толуидинско сино (ТС)

Главните цели на напредната дијагностика се да се пренесат *ex vivo* тестовите во *in vivo* дијагностика со визуелизирање на функционалните параметри на туморите и туморските клетки. Разбирањето на функционалната физиологија на клетките при растот и интеракцијата со конституентите на клеточниот матрикс и можноста за опсервација на лезиите *in vivo* имаат големо ветување за проучување на потенцијалните малигни лезии и превентивните интервенции. Примената на овие високо напредни технологии при дијагностицирање на туморит ја подобрува и унапредува грижата за пациентот.

Виталното бојење е техника која ги искористи својствата на одредени бои за да се потенцираат некои ткива, клетки или клеточни органели. Најчесто применувана боја за витално бојење на ткивата во оралната медицина е толуидин сината боја (ТС), витална ацидофилна метахроматска боја од тиазинската група која се врзува за киселинските клеточни елементи како што се ДНК и РНК и е делумно растворлива и во вода и во алкохол. Поради оваа причина, тоа е широко употребувана од дијагностичарите за да се олесни раното откривање на малигните лезии, додека од хирурзите за да се демаркира интра-оперативното екстендирање на лезијата ¹⁹⁸.

Теоретски, диспластичните и малигните клетки имаат квантитативно поголема содржина на нуклеинска киселина отколку здравите и непроменети клетки, па така

боењето на сомнителните лезии може да помогне во препознавање на мукозните промени. Покрај тоа, малигниот епител може да содржи меѓуклеточни канали кои се пошироки од оние кај здравиот и непроменет епител, олеснувајќи ја пенетрацијата на бојата ¹⁹⁹. ТС се користи како витална боја за да ги нагласи потенцијално малигните орални лезии, уште од почетокот на 1980-тите. Позитивното обојување со ТС се манифестира како темно, кралско сино обојување.

Бојата толуидин сино (Toluidine blue), која според хемискиот состав претставува толониум хлорид, се смета за едноставна, евтина и чувствителна помошна алатка за идентификација на раниот ОСКК и дисплазии од висок степен ⁷⁶.

Неговата клиничка примена при боење на неопластични клетки за прв пат ја опишал Richart во 1963 година кој ја користел бојата за да се обои карциномот на грлото на матката ²⁰⁰. Оттогаш се употребува како витално боење за откривање на цервикална дисплазија и карцином за време на колпоскопија.

Генерално, контрастните средства претставуваат оптички активни агенсии насочени кон специфичните клетки на интерес како на пример канцер клетките. Кога се нанесуваат на ткивото, агенсите имаат улога да ја зголемат нашата способност да ги разликуваме нормалните структури од абнормалните. Постои општ консензус помеѓу истражувачите дека бојата има прилично голема чувствителност за откривање на карциноми во оралната празнина. Еден неодамнешен извештај дава опсег од 79% до 100% за неговата сензитивност и уште пошироки рамки од 31% до 100% за специфичноста на боењето ⁷⁸. Пониското ниво на специфичност најчесто е поврзано со неспецифично врзување на бојата за области на воспаление и траума. Повторното проследување на лезијата за која постои сомневање дека е ТС-позитивна, се препорачува пред изведување на биопсијата, за да се елиминираат можните локални причини за иритација на ткивата и да се подобри специфичноста.

Во последниве години, дијагностичката способност на боење со ТС е евалуирано во голем број студии. Epstein и сор., презентираат зголемување на сензитивноста на клиничкиот преглед по примена на ТС при откривање на малигни лезии кај пациенти со висок ризик ⁷⁹. Постојат докази дека ТС ја подобрува визуелизацијата на преканцерозната

лезија со презентирање области со висок ризик-области со зголемена пролиферација на клетки, што упатува кон потребата од земање биопсија. *In vivo*, толумидин сино ја обојува дезоксирибонуклеинската киселина и може да се задржи во меѓуклеточните простори на дисплазијата⁸⁰. Понатаму, може да се најде кај диспластичните клетки и малигни ткива на места на губење на тумор супресорните гени, потенцијално предвидувајќи малигна трансформација на премалигната лезија или веќе претставува ОСЦК при дијагностицирањето²⁰¹. Некои автори исто така сугерираат дека интензитетот на боење по примената на ТС може да обезбеди важни информации поврзани со врзувањето на бојата со молекуларните промени, предвидувајќи го неопластичниот ризик, што е најважно во случај на втор примарен карцином (ОСЦК) или рецидив²⁰². Во друга студија, авторите го испитувале молекуларниот профил на ОПМЛ, и тоа и позитивните и негативните лезии по боење со ТС, со проценка на соодносот помеѓу интензитетот на боењето и хромозомските аберации²⁰³. Загубата на хетерозиготноста, која се јавува почесто кај примероци позитивни на ТС, може да укаже на зголемен ризик од неопластична прогресија²⁰⁴.

Epstein и сор., испитувајќи ги молекуларните профили на ТС позитивни и ТС негативни орални премалигни лезии ги процениле варијациите на интензитетот на боење со молекуларни аберации⁸⁰. Загубата на хетерозиготноста на 3p14 и 9p21, 17p13 и присуство на повеќе од една локална загуба се пријавени почесто кај ТС позитивните примероци и се во корелација со ризик од прогресија во ОСЦК или рецидив. Сите обоени лезии покажале загуба на хетерозиготноста со поголема фреквенција кај диспластични лезии. Задршката на ТС е поврзано со алелната загуба и со хистолошката прогресија на лезиите.

Во лонгитудинална проспективна студија Zhang и сор., докажуваат дека ТС позитивните лезии прикажале повисока фреквенција и повеќекратна загуба на хетерозиготноста, што укажува на ефикасност на ТС во идентификување на области кои имаат абнормална молекуларна промена⁸⁵. Понатаму, прогресијата на ОПМЛ во ОСЦК била значително повисока кај позитивно обоените области, со четирикратно поголем ризик од прогресија кон ОСКК дури и кај лезии со бенигна хистопатологија или лесна дисплазија. По 44 месеци, 33% од ТС позитивните орални премалигни лезии со или без дисплазија напредувале во ОСКК, додека само 5% од негативните мукозни лезии напредувале кон карцином⁷⁹. Кога

1% воден раствор на толуидин сино се аплицира врз сомнителна лезија во време траење од 30 секунди, добиената ацидофилна метахроматска нуклеарна дамка овозможува да се диференцираат областите на *Ca in situ* или инвазивен карцином од нормалното околно ткиво. Иако е откриено дека ТС е високо сензитивна и умерено специфична метода за малигните лезии, таа е далеку помалку сензитивна за премалигни лезии со лажни негативни стапки до 58%^{77,84}.

Толуидин сино, исто така, е докажано дека помага во проценувањето на маргините околу оралниот карцином во актот на ресекција⁷⁹. Меѓутоа, мислењето на истражувачите е дека иако толуидин синиот тест е корисен во идентификацијата на оралните канцери, тој не треба да се смета за замена на биопсијата, а негативен тест не го исклучува присуството на дисплазија или дури и орален карцином.

Едно рандомизирано контролирано испитување со примена на толуидин сино, обезбеди доказ од ниво 1. Според овие автори употребата на толуидинско сино, како средство за плакнење на устата или апликација на местото на промена на ткивото, се препорачува за идентификување на лезии, забрзување на одлуката за биопсија како и селекција на местото за биопсија⁸⁰.

Обојувањето дефинирано како темно кралско сина дамка се смета за позитивен наод, бледо сината дамка е сомнителна, а кога не се забележува никакво обојување, тоа се толкува како негативен наод. Сè уште е дискутабилно дали бледо - синото боење треба да се смета за позитивен наод. Неколку студии сугерираат дека само боењето со темно кралско сино треба да се сметаат за позитивни^{205,206}. Дигиталната анализа на бојата може да биде корисна за испитувачите во толкувањето на бојата на оралните лезии пребоени со ТС, особено кога синиот тон е со среден интензитет²⁰⁷.

Боењето со ТС се користи многу години како помошно средство при скрининг и пост-хируршки менаџмент на ОПМЛ и ОСЦК^{79,86,118,208}. Постои тврдење дека боењето со ТС има повисока стапка на откривање на ОПМЛ и може дополнително да ја намали инциденцата на оралниот карцином во споредба со КОП⁸⁷. Сепак, боењето со ТС може да даде висок процент на лажно позитивни резултати. Како негативна карактеристика на примена на ТС методот е фактот дека некои бенигни хиперпластични и инфламаторни лезии може да

бидат обоени бидејќи содржат големи количини нуклеински киселини ⁴³. Трауматските бенигни лезии исто така можат да ја задржат бојата, но сепак, тие се разликуваат од малигните лезии по тоа што бојата често ја опкружува улцерацијата и не трае долго. За да се намали лажната позитивна стапка, препорачливо е понатамошна повторна проценка на незаздравувачка рана по најмалку 15 дена ²⁰⁹.

Повеќето студии кои го обработуваат ткивното боење со ТС имаат значителни ограничувања и пристрасност кои според Lingen и сор., се состои во малиот број на рандомизирани контролирани испитувања, изостанува примената на хистолошката дијагноза како златен стандард, но и постоење на варијабилност во техниките на боење и интерпретацијата на резултатите т.е. обојувањето ⁷⁰.

Долгогодишната примена на овој метод открива бројни литературни податоци за потенцијалните вредности на ТС, а еден неодамнешен преглед од литературата ⁵⁰ идентификувал 77 публикации ⁸¹. Сепак, само 14 од нив ја оценуваат способноста на бојата да идентификува промени типични за орален карцином кои инаку не би биле дијагностицирани со клинички преглед без употреба на дополнителни помошни средства. За жал, овие студии се со ограничена релевантност за употребата на ТС како скрининг тест, затоа што ниту една од нив не е рандомизирано контролирано испитување, ниту едно не било спроведено во примарната здравствена заштита, а повеќето истражувања биле серии на случаи од високоризична популација со познати лезии, а изведувани од специјалисти.

Сензитивноста на ТС како дијагностички додаток варираа од 38 до 98% (во просек, 85%) и специфичноста варира од 9 до 93% (во просек, 67%). PPV се движи од 33 до 93% (просек од 85%) и NPV од 22 до 92% (просек од 83%). Epstein и сор. ⁸⁰, чија студија била единствената студија со употреба на боење со ТС за преглед на оралната мукоза кај пациенти со висок ризик, пријавиле најниска специфичност и NPV, додека Zhang и сор. ⁸⁵, пријавиле најниска сензитивност и PPV. Истражувачите во три студии, исто така, пријавиле податоци за точност за непречено визуелно испитување, споредено со хистопатолошките наоди, 40 до 93 проценти ^{50,85,199}. Специфичноста варира од 50 до 75%. PPV се движи од 36 до 78% и NPV од 71 до 90%. Иако подобреното откривање на дисплазиите како резултат на примена на ТС е попроменливо, откривањето на ОПМЛ и инвазивниот ОСЦК е значително подобро во две

од овие студии ^{85,199}, но не во третата ⁵⁰. Проспективната лонгитудинална студија ⁹⁰ наведува дека мукозните лезии кои ја задржуваат бојата на ТС, дури и оние што се категоризирани дека претставуваат помал ризик (т.е. оние со мала или целосно отсутна дисплазија на микроскопски преглед), се силно предвидливи за ризик од малигна трансформација.

Студијата спроведена од Kumar и сор., се состоела од 17 клинички сомнителни случаи на орална леукоплакија ²¹⁰. Проучувани се и ефектот на боење на толуидин сино и хистопатолошките карактеристики, и заклучено е дека боењето со толуидин сино е чувствителен витален метод за боење на леукоплакија. Тој е корисен дијагностички клинички тест со сензитивност од 92% и специфичност од 100%.

Поттикнати од широката примена на толуидин сино во дијагностиката и следењето на оралните потенцијално малигни нарушувања и оралниот карцином, и ние во нашето истражување ја вклучивме евалуацијата на оваа метода како една од можните дополнителни опции при дијагностичкиот протокол. Со употреба на Толуидин сино методот во нашата студија, 24 пациенти од групата N1- орални потенцијално малигни лезии – преканцерози, беа класифицирани како позитивни, од кои 21 беа вистина позитивни, 3 беа лажно позитивни, 3 лица лажно негативно и 3 лица беа класифицирани како точно негативни. Анализата покажа дека кај преканцерозите, за методот витално боење со толуидин сино, сензитивноста изнесува 87,50%, специфичноста е 50%, позитивната предиктивна вредност е 87,50%, а негативната предиктивна вредност достигнува 50%. Точноста, односно, веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со методот витално боење со Толуидин сино изнесува 80%. (Табела бр. 13 и 13А и Графикон бр. 13 и 13А) На табела бр.13А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на Толуидин сино методот, заедно со долната и горната граница на интервалот на доверба од 95%, а на графикон бр. 13А е дадена ROC – кривата.

Нашите резултати се во согласност со резултатите од студијата на Barrellier и сор., каде сензитивноста бележи вредност од 92% наспроти нашите 87,50%, а специфичноста во износ од 42% е блиска со вредноста која ние ја добивме во износ од 50%. Во овие околности

тестот демонстрирал висока сензитивност, но ниска специфичност, при што 40 пациенти (58%) имале лажно позитивно ТС обојување ⁸².

Нашите резултати бележат пониски вредности за сензитивноста во однос на Rosenberg and Cretin кои презентираат нешто повисоки вредности кои варираат од 93,5% до високи 97,8% ²⁴⁹. Специфичноста, пак, е значително повисока од резултатот кој ние го добивме (50%) и бележи вредности од 73,3 – 92,9%. Овие вредности, авторите ги припишуваат на главно високите лажно-позитивни резултати.

Добивме целосно спротивни резултати со оние на Rahman и сор., кои измериле сензитивност во износ од 66,67%, додека специфичноста достигнала 81,35%, кој е значајно повисок од нашиот резултат (50%) ²¹².

Во однос на нашите резултати, Pallagatti и сор., презентираат нешто повисоки вредности за сензитивност на методот во износ од 95%, меѓутоа значително повисоки вредности за специфичност од 71,45%. PPV бележи речиси иста вредност која ние ја добивме - 87,50% и изнесува 84,6%, додека NPV со 91% е скоро двојно поголема од вредноста нотирана во нашето истражување ²⁰⁶.

Patton и сор., даваат детален преглед на литературата и мета анализа на испитувањето за проценка на PPV, Se и Sp на техниката ⁸⁶. Кога биле исклучени студиите со низок квалитет, сензитивноста на ТС како дијагностичко помагало, се движела помеѓу 38% и високи 98%, додека специфичноста бележи вредности од 9-93%. Позитивните предиктивни вредности се движат од 33-93%.

Авториите заклучуваат, со оглед на овие високо варијабилни резултати, дека ТС треба да се користи како дополнително средство кај високо ризичните популации. Покрај тоа, повеќето автори препорачуваат техниката да ја користат само искусни и професионално обучени лекари.

Општо земено, испитувањето со ТС е поврзано со ниска специфичност, а тоа спречува ТС да стане стандардна компонента на рутинските прегледи за рана дијагностика на орален карцином во САД.

Lingen и сор., изведуваат критичка проценка на повеќе дијагностички системи ⁷⁰. Авторите заклучуваат дека поткрепувачките докази се ретки и дијагностичката предност во однос на

стандардната интраорална инспекција може да биде ограничена. Дали овие техники, меѓу кои и методот на ТС помагаат да се дефинираат преканцерозните лезии кои не можат да се видат под бела светлина, останува нејасно, но, доколку е така, техниката може да биде корисна. Општо земено, сензитивноста на боењето со ТС се движи од 78% до 100%, а специфичноста се движи од 31% до 100%.

Epstein и сор., спровеле компаративна студија, во која ТС и Луголовиот раствор биле користени и во комбинација и одделно кај 59 пациенти¹⁹⁹. Сензитивноста и специфичноста на ТС бележеле вредности од 92,5% и 63,2%, соодветно, што спред сензитивноста соодветствува со нашите резултати, а исто така во близок сооднос се и вредностите за специфичноста на методот.

Слични вредности нотира друга студија, каде 30 испитаници со клинички сомнителни ОПМЛ и 30 испитаници со клинички сомнителни малигни лезии, биле подложени на боење со ТС и Луголов раствор, па целокупната сензитивност при откривање на дисплазија или малигни лезии изнесувала 92,7% додека специфичноста била 60%²¹⁴.

Zhang и сор., сугерираат дека интензитетот на боење може да обезбеди важни податоци заради врзување на толуидин сината боја на местата на молекуларни промени кои предвидуваат ризик за малигнитет, а се известува дека дури и кај слабо обоените области имало значително зголемени молекуларни алтерации во споредба со толуидин сино негативните примероци⁸⁵. Gandolfo и сор., објавија дека сите ОСЦК се обоиле толуидин сино позитивно и дека ниту една лезија на ОСЦК не е обоена со бледо сина боја²⁰⁵. Сепак, Gray и сор., и Missmann и сор., покажале дека кога еквивалентно боење било вклучено со позитивно обојување, сензитивноста на боењето на толуидин сино варираше од 40% до 100%^{81,214}. Доколку нерамномерно обоените лезии се сметаат за негативни, сензитивноста варира од 81% до 100%²¹⁴.

ТС има можност да го редуцира бројот на изведени биопсии преку потврдување или исклучување на сомнежите за алтерација на одредено ткиво. Во студијата на Pallagatti и сор. е докажано дека кога лезијата е слабо обоена, во повеќето случаи демонстрира хистопатолошки негативен наод²⁴⁴. Иако овие наоди укажуваат дека ткивното боење со ТС може да се смета како дополнување на дијагностичките процедури при откривањето на

диспластичните промени во епителот, сметаат дека се потребни поголеми студии за дефинитивно да се потврдат прашањата поврзани со скрининг - употреба на ТС како алатка за рана детекција.

Кај втората испитувана група пациенти (N2), со орални лезии високо суспектни за карцином, скрининг методот со употреба на ткивно боење со помош на Толуидин сино, ги класифицираше сите 30 пациенти како позитивни, од кои 28 беа вистина позитивни, а 2 беа лажно позитивни. Анализата со тестот за сензитивност, покажа дека кај оваа испитувана група, за Toluidine сино методот сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 93,33%, а негативната предиктивна вредност е 0%. Точноста / веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Toluidine сино скрининг методот изнесува 93,33%. (Табела бр. 18 и 18А, Графикон бр. 18 и 18А) На табела бр.18А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на Toluidine blue методот со интервал на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 18А е дадена ROC – кривата.

Компарацијата на резултатите кои ги добивме кај првата испитувана група (N1) со орални потенцијално малигни лезии – преканцерози и втората група (N2) со орални лезии со високо суспектни за орален карцином јасно укажува на поголема сензитивност на методата од 100% наспроти 87,50% кога таа се применува кај високо ризични пациенти. Со овие наоди се придружуваме на голем број студии кои го делат истото становиште⁸⁶. Исто така и вредностите за точност на методот кај (N2) групата во износ од 93,33% наспроти 80% кај (N1) групата уште еднаш даваат силна поддршка на употреба на методот витално боење со Толуидин сино особено кај пациенти со високо суспектни лезии за орален карцином.

Onofre и сор., во својата студија откриваат дека сите карциноми се обојуваат позитивно, но само 50% од дисплазиите биле позитивни, додека од бенигните лезии ТС позитивно се обоени 35%⁸³. Авторите презентираат вредности за сензитивност на методот од 72%, специфичност 65%, позитивна предиктивна вредност 43,5% а негативна предиктивна вредност 88,9%. Вредностите кои ние ги добивме во однос на сензитивноста и PPV се значајно поголеми (Se=100% и PPV=93,33%) меѓутоа се целосно спротивни во однос на специфичноста на методот и NPV (Sp=0%, NPV=0%). За применливоста и точноста на овој

метод кај пациенти со високо ризични лезии своја потврда даваат и резултатите на Martin и сор., кои обоиле серија на ресекциони примероци, за да направат корелација на присуство на боја во хистолошките примероци на карцином или дисплазија⁸⁴. Сите ткивни примероци со карцином биле позитивни, но само 17 од 40 (42%) од примероците со дисплазија биле позитивни.

Нашите резултати најмногу се приближуваат до резултатите на Allegra и сор., кои во своето истражување откриваат сензитивност во износ од 96,2% и PPV со износ од 86,6%²¹⁵. И авторите, што е пример и во нашиот случај, истакнуваат статистички сигнификантна разлика помеѓу сензитивноста на толуидин сино боењето и КОП ($P < 0,001$). За специфичноста и PPV не е докажана статистичка сигнификантност ($P > 0,05$).

Giovannacci и сор., во неодамна објавениот систематски преглед ги објавуваат последните сознанија достапни во литературата и ги сублимираат вредностите за сензитивност, специфичност, позитивната и негативната предиктивна вредност²¹⁶. Средните вредности за Се резултираат со 72,5% (56,1%-95%) и се значајно пониски од нашите максимално измерени 100%. Специфичноста пак, поткрепена низ 8 вклучени студии, бележи износ од 61,4% (25%-74,1%) и е сигнификантно повисока од нашите резултати, кои бележат 0%. PPV, сумирана од 5 обработени студии, со средна вредност од 58,16% (35,2%-84,6%) е пониска во однос на нашите 93,33%, додека од нив измерената NPV во износ од 95,3% (66,7%-90,9%) е целосно спротивна од нашите 0% постигнати кај истата испитувана група. Според ова можеме да донесеме заклучок дека резултатите кои ние ги добивме бележат повеќе случаи со вистина позитивни наоди а помалку лажно негативни наоди, што оди во поткрепа на зголемување на силината и предвидливоста на овој метод. Авторите наведуваат дека стандардната девијација за сензитивноста на методот е во износ од 13,13 и 15,95 за специфичноста, и се пониски во однос на останатите дијагностички алатки.

Резултатите кои ние ги презентираме во голем дел се разликуваат од оние на Shukla и сор., кои во своето најново истражување документираат умерена сензитивност на Толуидин сино тестот со износ од 63,33% и висока специфичност од 83,33%²¹⁷. Наспроти нашите вредности од 100% сензитивност и целосно спротивните вредности за специфичност од 0%, PPV речиси го дели истиот процент со оној на авторите во износ од 90,48%. За NPV

презентираат износ од 47,62%. Авторите укажуваат на постоење дијагностичка складност помеѓу наодите од толумидин сино растворот и хистопатолошките наоди со статистички сигнификантна асоцијација ($P < 0.05$), која воедно е потврда и на резултатите на Upadhyay и сор., за сигурноста т.е. валидноста на боенењето со толумидин сино како резултат на бројните лажно позитивни резултати ²¹⁸. Тие известуваат за сензитивност од 73,9% и специфичност од пониски 30%. PPV е со вредност од 54,8%, а NPV изнесува 50%.

Strome и сор., обработуваат 14 достапни студии и детерминираат сензитивност од 40%-100% и уште поширок опсег на вредности за специфичност во износ од 31%-100% ²¹⁹. И кај овие студии, повторно се среќаваме со целосно спротивни резултати за измерената специфичност што кај нас беше немерлива и бележи вредност од 0%.

Liu и сор., од West China колеџот, во својот преглед од 2016 година, даваат сумарен приказ на резултатите на Warnakulasuriya и Johnson (1996), Epstein и сор. (1997), Ram и Siar (2005), Epstein и сор. (2008), Lingen и сор. (2008), Patton и сор. (2008), Balevi (2011), Awan и сор. (2012), Mojsa и сор. (2012) и Rajmojan и сор. (2012) демонстрирајќи широк појас на вредности за сензитивност на методата, која се движи од 38 – 100% и специфичност на методата, со вредности од ниски 9% до максимални 100% ²²⁰.

Појавата на втор примарен орален карцином или рецидив на ОСЦК кај претходно третирани пациенти е често забележана консеквенца во клиничката пракса која и науката ја потврдува ^{171,221,222}.

Ваквиот негативен исход влијае на долгорочното преживување на пациентите, па оттука раното откривање е клучно кај пациентите со висок ризик. Овие лезии може да се појават како перзистентна или рекурентна болест, од клетки во непосредна близина на основниот тумор или во полето на молекуларна промена ^{221,223}.

Сепак, откривањето е потешко кај претходно третирани пациенти со карцином заради пост-третманските мукозни промени како резултат на зрачењето и операцијата.

Бидејќи молекуларните абнормалности претходат на фенотипската промена и може да бидат присутни на маргините на лезиите кои се хистолошки нормални, резидуалната болест може да остане во ексцидираните места на лезијата или се протега надвор од полето на зрачење, осудувајќи го пациентот на рецидив ^{86,224-227}. Zhang и сор., посочуваат

дека интензитетот на боење може да обезбеди важни податоци заради врзување на ТС за молекуларните промени што предвидуваат малигнен ризик ⁸⁵.

Толуидин сино не ги обојува диспластичните лезии во раната фаза, што укажува на тоа дека некои диспластични лезии можеби немаат задржување на ТС поврзано со загуба на хетерозиготноста ²²⁷.

Неодамнешните студии покажаа дека хистолошки бенигни лезии кои биле позитивни на ТС откриле молекуларни абнормалности и затоа биле со зголемен ризик од прогресија на карцином, што укажува на тоа дека „лажно позитивните“ резултати од ТС може да претставуваат молекуларно вистински позитивни лезии со висок ризик од прогресија кон ОСЦК ^{85,228}.

Mashberg открил втори примарни промени на оралната мукоза, кои не биле откриени со клиничкиот преглед и биле идентификувани по аплицирање на Толуидин сино што се протега надвор од пределот на лезијата ⁷⁹.

Нашите резултати добиени при скрининг методот со Толуидин сино наложи сите 30 пациенти од групата (N3) - испитаници со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување да ги класифицираме како позитивни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за Толуидин сино методот, сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот од оваа испитувана група ќе биде правилно класифициран со Толуидин сино изнесува 100%. (Табела бр. 22 и 22А, Графикон бр. 22) На табела бр. 22А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност, како и точноста на Толуидин сино методот, со интервал на доверба од 95% (CI = 95%).

Вредностите кои ги добивме во однос на сензитивноста на методот на витално боење со Толуидин сино кај третата испитувана група (N3) презентираше максимални вредности од 100%, со кое се позиционира пред останатите две групи (N1) и (N2). Исто така и точноста на методот добиена кај групата испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување, изнесува 100%, со што јасно се наметнува фактот за негова неприкосновена примена токму кај оваа група пациенти. Студиите за проценка на ТС

достапни во литературата, демонстрираат сензитивност и специфичност, од 93,5 до 97,8% и 73,3 до 92,9%, соодветно ^{228,229}.

Epstein и сор., при скрининг за рецидиви “кај пациенти кои претходно биле третирани поради малигни заболувања на горниот аеро-дигестивен тракт, откриле дека употребата на раствор на толониум хлорид е посензитивна од клиничкиот преглед (КОП) изведен самостојно при детекција на лезии кои би можеле да претставуваат карцином или Ca in situ ⁸⁰. Тие известуваат дека сензитивноста на методот е зголемена со неговата употреба при откривање на неоплазмите, во споредба со КОП од 26,6% на 96,7%. Зголемената сензитивност во голема мера се припишува на лезиите кои се пребојуваат, а не биле откриени клинички со визуелен преглед ⁸⁰. Овие откритија се слични на оние забележани во студијата на Pallagatti и сор. ²⁰⁶.

Овие вредности делумно соодветствуваат со нашите измерени резултати и тоа само во делот на сензитивноста, но се целосно спротивни од приложените вредности за специфичност.

Корелацијата помеѓу интензитетот на боење на ТС и сериозноста на дисплазија е дискутабилна. Во мултицентрична студија на 84 пациенти, со 97 клинички сомнителни лезии, сите подложени на биопсија, е прикажано дека ТС обезбедува 100% вистински позитивни резултати и ја намалило клинички утврдена лажно позитивна стапка за 55,26% со 100% NPV. Epstein и сор., покажале дека употребата на ТС како дел од клинички протокол, кај пациенти со висок ризик испитувани од искусни лекари го намалува бројот на биопсии на бенигни лезии од околу 50% и ги идентификува сите тешки дисплазии и лезии на ОСЦК ⁷². Се препорачува секое боење со Толуидин сино треба да го подигне индексот на сомневање и секоја лезија обоена со ТС треба да се смета за кандидат за биопсија ^{79,85}. Литературните податоци за употреба на ТС бојата потекнуваат од неколку систематски прегледи ^{41,81,86,211}. Свкупно, најсилната поддршка за клиничката апликативност на бојата лежи во неговата употреба како дијагностичко дополнително средство. Постојат бројни индикации за негова примена при идентификување на оралните карциноми или клеточната дисплазија што инаку не би биле дијагностицирани ^{82,230}. Една таква индикација е евалуација на оралната мукоза пред хируршката терапија. Друга индикација е

опсервација на лица со висок ризик, пациенти со висок степен на дисплазија или оние со историја на минато малигно заболување и ризик од повторна појава на заболувањето. Примери за таква употреба се сретнуваат во неколку неодамнешни публикации^{41,80,86,89,231}. Способноста на ТС да ги открие оралните малигни лезии е тема на бројни дискусии и спротивставени мислења. Постојат случаи кога значителни делови од лезијата со потврдена дисплазија не се обојуваат со растворот^{83,84,230}. Неодамнешните резултати од една лонгитудинална студија кај 100 пациенти со примарна орална премалигна лезија укажуваат на тоа дека ТС може да направи успешно обојување на лезиите со зголемен ризик од малигна прогресија⁸⁵. Таа студија презентира силна корелација помеѓу ретенција на бојата и ризикот од прогресија, што се смета за поврзаност на обојувањето со присуството на патолошки фактори на ризик, молекуларни модели со висок ризик како и со исходот.

Во Cochrane-овиот преглед, Масеу и сор., ги даваат збирните проценки за виталното боене добиени од мета-анализата сочинета од 14 научни студии; презентираат сензитивност од 84% (95% CI: 0,74 до 0,90) и специфичност од 70% (0,59 до 0,79). За цитолошката анализа, сензитивноста изнесува 91% (0,81 до 0,96) и специфичноста, исто така, 91% (0,81 до 0,95) со 12 студии вклучени во мета-анализата²³³. Авторите заклучуваат дека со оглед на релативно високите вредности на збирните проценки за сензитивноста и специфичноста за цитолошката анализа, се чини дека таа нуди најголем потенцијал; но комбинирано, ТС придружен со цитолошката анализа е ветувачки пакет од дијагностички постапки. Авторите сметаат дека постои голема нехомогеност на пријавените вредности и нема значителен доказ за супериорност на едната метода над другата. Тие позиционираат став дека се потребни дополнителни клинички испитувања со повисоко ниво на докази за да се процени вистинската корисност на алатките за визуелна дијагностика.

Анализата на акумулираните научни докази сугерира дека сензитивноста е поголема во случаи на карцином отколку во случаи на дисплазија. Свкупно, сензитивноста на оваа техника за откривање на орален карцином се движи од 78% до 100% а специфичноста од 31% до 100%²³⁴. Иако ТС е многу сензитивна и умерено специфична за малигни лезии, таа е далеку помалку сензитивна за ОПМЛ со пријавени лажно - негативни наоди до 58% за идентификувана лесна до умерена дисплазија²⁷².

Постојат докази дека ТС тестот е особено корисен за идентификација на орални карциноми, потврдени од позитивното клиничко искуство на лекарите кои со години го користат овој пристап. Сепак, не постојат доволно докази што го препорачуваат или се против самостојна употреба на ТС за подобрување на идентификација на потенцијално малигни лезии кај општата популација ⁷⁹. Сепак, со оглед на драматичните импликации кои настануваат при недијагностицирање на ОСЦК од една страна и апликација на толуидин сино боењето, кое е брзо, минимално инвазивно, ефтино и добро прифатено од пациентот, од друга страна, авторите ја поддржуваат употреба на ТС како дијагностичка алатка во рацете на лекарите обучени за точна интерпретација на нејзините резултати. Исто така, силно се нагласува техниката на витално боење да не се користи како замена за биопсија, туку како дополнителна помош за време на дијагностичката фаза, насочувајќи го изборот на правилното место за биопсија. Во фазата на следење, користењето на ТС е со цел рано откривање на рецидив или секундарен ОСЦК.

7.3. Орална CDx brush биопсија (ОББ)

Ексфолијативната цитологија се состои во собирање на примероци од клетки од мукозни површини со стружење, четкање или плакнење, со цел откривање на каква било цитолошка промена. Оваа техника за прв пат била дизајнирана за рано откривање на карцином на грлото на матката а од неодамна има примена и во оралната медицина за детекција на иницијалните промени на клетките суспектни за малигнитет ⁸⁶. Оваа техника е исто така корисна во дијагностиката на оралните лезии поврзани со вирусни и габични заболувања ²³⁴. Сепак, главното ограничување на овој метод е собирање на дисагрегирани клетки, што според тоа не овозможува патологот да постави дефинитивна дијагноза. Оралната CDx brush биопсија (ОББ) го користи концептот на ексфолијативна цитологија за да обезбеди цитолошка евалуација на клеточни диспластични промени. Оралната CDx brush биопсија обезбедува комплетен транспителен примерок, додека четката навлегува

длабоко во епителните слоеви. Оралните цитолошки епителни примероци се фиксираат на стаклена подлога, се бојат со модификуван тест на Papanicolaou и микроскопски се анализира преку компјутерски - базиран систем за снимање. Сепак, иако ексфолијативната цитологија и техника на brush биопсија се корисни за утврдување на поконкретна дијагноза на веќе видливи лезии, тие немаат значење при откривање на мукозни промени кои не се лесно видливи со голо око ^{100,104}. Напредокот во развојот на автоматски цитоморфометриските методи комбинирани со генетско и протеомичко профилирање можат да ги обезбедат потребните алатки за да ги насочат скрининг-стратегии во иднина ^{102,110}. Стандардната хируршка скалпел биопсија сеуште е сугерирана доколку постои клиничко сомневање за одредена лезија, без оглед на резултатот од оралниот CDx тест. OralCDx® е метод за анализа на клеточните примероци собрани со патентирана четка. Оваа техника, за разлика од конвенционалната цитологија, овозможува добивање на целосен трансепителен примерок во кој се претставени сите епителни слоеви - површни, средни и базални. Земањето на примероци од епителот со целосна дебелина е неопходно за правилна дијагноза ^{235,236}. Оваа техника може да биде корисна кај пациенти со мултипли лезии во усната празнина бидејќи мала е веројатноста да се добие репрезентативен примерок за биопсија од повеќе орални лезии кај пациент без претходна историја на ОСЦК. Слично на тоа, оваа техника може да се користи кај пациенти кои не даваат согласност за хируршка биопсија или не сакаат повторно да подлежат на хируршката биопсија во периодот на опсервација на претходно дијагностицираните лезии. Јасно е утврдено дека идентификувањето на анеуплоидноста е можеби најдобриот предвидлив маркер за можна неопластична трансформација ²³⁷.

Улогата на ОББ и ДНК-цитометријата за скрининг на оралниот карцином е разгледана од страна на Bocking и сор., во нивниот труд објавен во Journal of Oncology, во 2011 година ²³⁸. Авторите укажуваат дека иако биопсијата се смета за стандарден критериум, ексфолијативна цитологија може да биде корисна при скрининг на пренеопластични лезии, како што се леукоплакија, еритроплакија и лихен планус. Ограничен број студии кои ја проценуваат оваа техника на дијагностички скрининг се со сензитивност од 71% до 100%, специфичност од 27% до 94%, PPV од 38% до 88% и NPV од 50% до 100% ²³⁹. Податоците од

овие и други студии укажуваат дека лажно-позитивните наоди може да ја ограничат примената на оваа скрининг техника. Точноста на тестот може да биде поврзана со лезии за кои веќе се претпоставува дека се сомнителни врз основа на визуелна инспекција. Сепак, производителот на тестот сугерира дека не е наменет да се користи за проценка на сомнителни лезии како фиброми, мукоцели или пигментирани лезии. Бенефитот на системот меѓудругото се состои и во тоа што е релативно неинвазивен.

Докажано е дека OralCDx® тестот има сензитивност и специфичност над 90% и истиот е предложен како корисна алатка за скрининг, во специфични клинички ситуации, во случај на клинички сомнителни лезии, бидејќи се смета за едноставен и лесен, релативно ефтин, високо сензитивен и специфичен метод^{102,240,241}.

Достапните студии објавуваат дека сензитивноста и специфичноста на конвенционалната ексфолијативна цитологија при откривање на лезии на ОСЦК се движи помеѓу 76,8% - 100% и 88,9% - 100%, соодветно¹⁰⁶. Земањето биоптичен материјал по пат на четкање се покажало како попогоден метод за колекционирање во споредба со употреба на дрвена шпатула²⁴¹. Комбинираната употреба на боење со Толуидинско сино и ОББ, демонстрира висока сензитивност и умерена специфичност за лезии на ОСЦК (6% лажно-негативни наоди), но пониска сензитивност кон ОПМЛ со вредност од 89% и специфичност од 92%⁷⁷. Употребата на brush биопсија со компјутерски асистирани анализа наоѓа широка клиничка примена при проценка на површински абнормалности и на оралната и на орофарингеалната мукоза, кои вклучуваат леукоплакија, еритроплакија и мешани црвени и бели лезии, како што е еритролеукоплакија. Раната проценка на таквите лезии, што доведува до брза идентификација на диспластична преинвазивна или рана минимално инвазивна болест, е од особено значење за елиминирање на овие лезии; дополнително, ја елиминира секоја несигурност во врска со идентитетот или карактеристиките на површината на орална мукозна абнормалност која може да претставува диспластична или малигна лезија⁹³. Од клиничка перспектива, белата леукоплакичната лезија или лезиите со еритематозна компонента – еритроплакија, имаат широко варијабилен презентирачки изглед, често се асимптомни и може да изгледаат безопасно. Понатаму, повеќе загрижувачки сомнителни лезии според нивниот изглед, на крајот кога ќе се изврши

биопсија може да покажат бенигни, реактивни или воспалителни клеточни отстапувања. Таквите лезии се во динамична состојба, менувајќи го изгледот во релативно кратка временска рамка па затоа лекарите не се секогаш во можност точно да го карактеризираат или да го предвидат однесувањето на таквите промени врз основа на клиничките карактеристики. Во минатото, традиционалната хистолошка евалуација на овие лезии се препорачуваше како рутинско прашање²⁴².

Во голема мултицентрична студија, OralCDx®brush тестот демонстрира високи вредности за сензитивност и специфичност - 100% и 93% соодветно, во откривање на орална епителна атипичност заснована врз морфологија, кератинизација и плоидност на примерокот¹⁷⁸. Brush биопсијата со OralCDx® или BrushTest®, во форма каков што е комерцијално достапен меѓу стоматолозите, е едноставен тест за секојдневна амбулантска примена, чија цел е дистинкција дали навидум безопасните бели или црвени дамки во устата на пациентите се преканцерозни или малигни мукозни промени.

Во секоја студија во која истата лезија била испитувана и со OralCDx® четкичката и со хируршка биопсија, OralCDx® демонстрирал сензитивност барем како и хируршката биопсија во идентификувањето на клеточната дисплазија или карцином. Покрај тоа, позитивните и негативните предиктивни вредности на OralCDx® во објавените студии се прикажани како значително поголеми од оние на другите прифатени тестови, како што се Пап тестот, мамограм и антиген специфичен за простата¹⁷⁸.

Резултатите со овој пристап се охрабрувачки. Извештаите од центрите за орална медицина и патологија, како и меѓу стоматолозите - специјалисти презентирале прилично силна асоцијација помеѓу позитивен или атипичен резултат со методот на ОББ и присуство на карцином или дисплазија при хируршка биопсија кога била применета кај клинички сомнителните лезии, т.е. за тестирање на потенцијален орален карцином или премалигни орални лезии¹⁰⁰⁻¹⁰².

Преваленцата на дисплазија кај испитаниците, утврдена со помош на хируршка биопсија, варира од 14% до 38%. Пријавените вредности за сензитивност варираше од 71% до 100%, а специфичноста варираше од 27% до 94%. PPV се движи од 38% до 88%, а NPV од 60% до 100%. Во студијата на Sciubba само мал процент од испитаниците со клинички бенигни

лезии кои биле подложени на ОББ добиле поистоветувачки хистопатолошки резултати ¹⁰⁰. Цитолошкиот тест на OralCDx претставува корисна алатка при откривање на диспластичните промени кај мукозните лезии со висок ризик.

Кога е пријавен абнормален ОББ резултат (атипичен или позитивен), клиничарот мора да го упати пациентот за земање биопсија од лезијата, бидејќи brush цитологијата не обезбедува дефинитивна дијагноза ^{100,103,104}. Резултатите се пријавуваат како "позитивни" или "атипични" кога клеточната морфологија е многу сомнителна за епителна дисплазија или карцином или кога абнормалните епителни промени се со неизвесна дијагностичка важност, соодветно ¹⁰⁵.

Постои контроверзност во однос на употребата на ОББ, бидејќи некои студии укажуваат на висока лажно-позитивна и висока лажно-негативна стапка ¹⁰⁴. Постојат повеќе примери во литературата за студии со суштински спротивни наоди, затоа повеќето статии укажуваат на понатамошно усовршување на методот. Стандардната биопсија сеуште е индицирана ако постои клиничко сомневање за појава на лезија, без оглед на резултатот на ОББ ^{97,105}. Сите горе наведени вредности од авторите достапни во литературата, чинат широк појас на релевантни индикатори во чии рамки се најдоа и вредностите измерени во нашето истражување.

Кај сите пациенти добиените резултати од ОББ ги споредувавме со оние добиени со патохистолошката верификација. Во групата (N1) испитаници со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози (ПК), резултатите кои ги добивме откриваат дека при методот на орална brush биопсија, од вкупно 30 пациенти, 26 пациенти се класифицирани како позитивни, од кои 24 беа вистина позитивни, 2 лажно позитивни, нема лажно негативно и 4 лице беа класифицирани како точно негативни. Статистичката анализа покажа дека кај оваа испитувана група, сензитивноста за методот ОББ изнесува 100%, специфичноста бележи 66,67%, позитивната предиктивна вредност е 92,31%, а негативната предиктивна вредност 100%. Точноста на методот, веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со ОББ изнесува 93,33%, односно, методот има значајна дијагностичка вредност. (Табела бр. 14 и 14А и Графикон бр. 14 и 14А) На табела бр. 14А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност,

негативна предиктивна вредност и точноста на Brush biopsy методот, заедно со долната и горната граница на интервалот на доверба од 95%, а на графикон бр. 14A е дадена ROC – кривата.

Неколку студии покажуваат охрабрувачки резултати со методот ОББ за проценка на оралните преканцерозни лезии. Важноста на биопсијата со помош на орална четкичка е потенцирана во една мултицентрична студија каде речиси кај 5% од клиничките бенигни орални мукозни лезии со употреба на оваа техника, а подоцна и со употреба на хируршка биопсија, потврдуваат диспластични епителни промени или инвазивен канцер ¹⁰⁰. Студијата на Scuibba и сор. е проспективна, мултицентрична студија за утврдување на сензитивноста и специфичноста на OralCDx brush биопсијата во детекција на преканцерозните лезии на оралната мукоза ¹⁰⁰. Вредностите прикажани во нивната студија, со измерена сензитивност во износ од 100% е во согласност со на нашите измерени вредности, додека специфичноста презентирана од нив од 92,90%, отстапува од вредноста за специфичност добиена во нашето истражување која е значително пониска - 66,67%.

Главната слабост на нивната студија, сепак е дека златниот стандард-хируршката биопсија не била извршена кај повеќето пациенти од класа II (лезии кои клинички изгледаат безопасно, несомнителни лезии) кое е кардинално правило за проценка на дијагностичките тестови. Во достапната стручна и научна литература сретнавме податоци кои се во согласност со резултатите кои ги добивме во нашето истражување. Точноста на brush тестот е предмет на многу објавени студии. Во секоја студија во која оралната лезија истовремено е испитувана со brush тестот и со стандардна биопсија, покажува дека овој тест има сензитивност и специфичност над 90% ^{100,102}. Овие студии демонстрираат дека brush биопсијата има висока сензитивност во елиминирање на присуството на дисплазија и карцином што го прави практичен начин за проценка на лезиите без јасна етиологија, како што е инфекцијата по траума.

За разлика од нашите резултати, Driemel и сор., презентираат ниски вредности за специфичноста која изнесува 0,32 иако сензитивноста на OralCDx brush биопсијата се движи во интервал од 0,71 до 1,00 ⁴³. Авторите сметаат дека дополнувањето на brush биопсијата со посоефицицирани методи како што е ДНК-цитометријата која користи ДНК-специфична

Feulgen боја за да ги квантифицира и идентификува отстапувањата во ДНК содржината во примерокот, може да ја подобри методата. Иако податоците сè уште се ограничени, се покажало дека приклучувањето на ДНК мерењата на цитолошката анализа ја зголемува сензитивноста и специфичноста на brush биопсиите⁵¹. Како корисен метод ДНК-image цитометријата во своите истражувања ја поддржуваат и други автори^{107,243,244}.

Употребата на оралната цитологија во откривањето на диспластичните лезии значително ветува, но досега е ограничена со променливи лажно-позитивни и лажно-негативни резултати^{43,70,86,94}.

Точноста на овој дијагностички модалитет е забележана по иницијалните испитувања, кои укажуваат на позитивни предиктивни вредности од атипичните и позитивните резултати на brush биопсии поголеми од 44%. Позитивните предиктивни вредности кои ние ги добивме во нашето испитување значајно се разликуваат од овие вредности и изнесуваат 92,31%, што укажува на поголемиот импакт на методот во однос на дијагностичката веродостојност.

Во 2008 година, Mehrotra и сор., ја истакнале вредноста на технологијата на brush биопсија за проценка на оралните лезии без помош на компјутерски-асистирана технологија, иако тие пријавиле гранично пониска сензитивност и специфичност. Акцентот бил да се стави овој вреден пристап во широка употреба во заедниците каде што ресурсите се ограничени, но потребата е висока¹⁰⁶.

Во согласност со нашите резултати се и неодамна објавените, каде ефикасноста на оваа техника е нотирана со позитивна предиктивна вредност од 84% и негативна предиктивна вредност од 98% во случаи кои се сметале за минимално сомнителни¹⁰⁷. Во студија со 70 случаи на клинички сомнителни орални мукозни лезии без докази за малигнитет, brush биопсијата обезбеди сензитивност од 55% и соодветна специфичност од 100%¹⁰⁸.

Сакајќи да ги евалуираме дијагностичките вредности на сите четири испитувани методи кај групата (N1) испитаници со орални потенцијално малигни лезии, направивме компаративна анализа, каде на графикон 16 се прикажани ROC – кривите од сите испитувани методи кај оралните потенцијално малигни лезии - преканцерози (ПК). Резултатите од тестот на сензитивност и специфичност, како и ROC – кривите покажуваат дека методот на Brush биопсијата има најзначајна дијагностичка вредност со постигнати

93,33%. Значајна е и дијагностичката вредност методот на витално боење со Толуидин сино при дијагностицирање на преканцерозите од 80%. За значајна точност на тестот, односно, методот кој се испитува, се смета вредноста над 75%, па ако примерокот на испитување е поголем, се добива точност од над 75%. Дијагностичката вредност на конвенционалното орално испитување со 76,67% е исто така значајна како и претходните две методи, додека Velscore методот има најмала/најслаба дијагностичка вредност која изнесува 53,33%.

Од статистичките анализите кои ние ги спроведовме јасно произлегува фактот дека **конвенционалниот орален преглед (КОП) во комбинација со скрининг методот на Brush биопсијата, е најефикасен во дијагностицирањето на оралните потенцијално малигни лезии - преканцерозите.**

Некои автори сакајќи да ја зголемат точноста на браш биопсијата, оваа техника ја користеле во комбинација со боење со толуидинско сино, со што даваат афирмација за високиот степен на сензитивност за малигни лезии ⁷⁷. Подоцнежните студии со употреба на аналитички алатки, вклучувајќи мас спектрометрија во комбинација со примероци од brush биопсија за разграничување на здраво од малигно орално ткиво и помеѓу канцер и други не-канцерогени лезии, покажале целосна точност од 96,5% ¹⁰⁹. Лезиите за кои е потребна brush биопсија ги вклучуваат необјаснетите клинички видливи промени на површинскиот епител, без разлика дали постои сомневање за карцином или преканцероза, како што всушност беше нагласено во студијата на Sciubba и сор.¹⁰⁰. Други автори, исто така, ја демонстрираат способноста на brush биопсијата да открие сличен тип лезии кои не се клинички сомнителни за карцином или преинвазивно заболување ¹¹⁰. Оваа последна студија, исто така, ја засили ефикасноста на оваа техника, покажувајќи позитивна предиктивна вредност од 38% со споредување на резултатите од brush биопсијата со последователна стандардна биопсија. Точноста на методот презентира од авторите, во износ од високи 90%, корелира со нашите добиени вредности за точност во износ од 93,33%, со што уште еднаш се потврдува значајната дијагностичка вредност на методот brush биопсија при детекција на лезии суспектни за орално потенцијално малигно заболување. Christian ја испитувал користа на brush биопсијата по пат на скрининг кај популациона група со низок ризик со лезиите од класа II ²⁴⁵. Јаката страна на оваа студија ја

вклучува значајната големина на примерокот (930 лица и 93 лезии), но сепак, оваа студија има недостаток кој се состои од неизведување биопсија кај сите испитаници. Како последица на тоа, невозможно е да се пресмета сензитивноста и специфичноста како и позитивната предиктивна вредност во студијата.

Во согласност со нашата студија е онаа на Scheifele и сор., која бележи високи вредности за сензитивноста и специфичноста, во износ од 92,3% и 94,3%, соодветно ¹⁰². Јачина на оваа студија е тоа што се чини дека е единствената студија во која се вршеле и brush биопсија и хируршка биопсија врз сите испитаници. Исто така, таа е единствена студија која пријавува стапки на веројатност, кои се корисни сумирани статистики за дијагностичките тестови.

Brush биопсијата со компјутерски асистирани анализа на примероците претставува технологија која може да послужи како помош за откривање и дијагностицирање на орална неоплазија. Кај пациенти со клинички сомнителни лезии, Oral CDx Brush тестот може да ја открие трансепителната цитологија на деагрегираните клетки; во овие случаи, сепак се препорачува стандардна биопсија, што ја прави релевантноста на овој тест сомнителна ²⁴⁶.

Во нашето истражување, методот brush биопсија го применивме и кај втората група испитаници (N2) - пациенти со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК), а добиените наоди беа патохистолошки верифицирани. Со Brush биопсија скрининг методот сите 30 пациенти беа класифицирани како позитивни, од кои 28 беа вистина позитивни, а 2 беа лажно позитивни. Анализата на тестот, покажа дека кај оваа испитувана група, сензитивноста за методот ОББ изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност достигна 93,33%, а негативната предиктивна вредност е 0%. Точноста на методот, односно веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Brush биопсија изнесува 93,33%. (Таб. бр. 18 и 18А, Граф. бр. 19 и 19А) На табела бр. 18А се дадени вредностите на Se, Sp, PPV, NPV и точноста на Brush биопсија методот со интервалот на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 19А е дадена ROC – кривата.

Вака добиените високи вредности за сензитивност која изнесува максимални 100%, и точност на методот од 93,3% во голем дел ја потврдува сигурноста и ефикасноста на brush биопсија методот и кај пациенти со орални лезии високо суспектни за карцином, и кај

групата (N1) - испитаници со орални потенцијално малигни лезии-преканцерози, каде исто така добивме подеднакво висока вредност, со измерена сензитивност од 100%, и точност на методот од 93,33%, што секако овој метод го прави преферабилен избор за дијагностика кај обете групи испитаници.

Постојат целосно спротивставени ставови поврзани со вистинската вредност на оваа техника наменета за рана детекција на ОСЦК. Според Rick и Slater ¹⁰⁴ постоењето на лажно позитивни наоди истакнува висока сензитивност (90%) и ниска специфичност (3%) што е во согласност со резултатите кои ние ги добивме. Во студијата на Potter и соп., биле пронајдени четири лажно негативни наоди од вкупно 115 анализирани случаи ¹⁰³. Иако бројот на лажно позитивни наоди е мал, важно е да се нагласи дека “средното” време на одложување на дијагностиката на ОСЦК во овие случаи било 117,25 дена што сепак претставува голем период и загуба на драгоцено време за терапија што понатаму влијае и на исходот и преживувањето на пациентите.

Нашите резултати се во согласност со студијата изведена во Судан, каде авторите цитолошката анализа на оралниот епител ја предлагаат како корисен ран дијагностички метод за детекција на епителна атипичност, но исто така и за детекција на малигни орални лезии ²⁴⁷. И покрај подобрувањата на методите што се користат за собирање цитолошки материјал, некои истражувачи сметаат дека оваа методологија сè уште претставува проблем при дијагностицирање на оралниот карцином. Проблемите главно се должат на постоењето на лажно негативни наоди добиени како резултат на нерепрезентативни примероци, како и на субјективноста на цитолошката проценка ^{248,249}.

Високата сензитивност која ја добивме кај втората група на пациенти (N2) соодветствува со наодите на други автори при откривање на малигните лезии, кои користејќи комбинација на лезии од Класа I и Класа II, пријавуваат 100% сензитивност во нивното истражување ¹⁰⁰. Позитивна карактеристика на студијата е фактот дека brush биопсиите и хируршката биопсија се анализирани независно од различни патолози кои подоцна биле вкрстени едни со други. Се чини оваа студија укажува дека техниката на brush биопсија открила случаи кои инаку би биле подложени на хируршка биопсија, но не

приложува информации за вистинската сензитивност и специфичност на тестот кај пациентите од Класа II.

Висока сензитивност со над 90%, што е во согласност и со нашето истражување, презентира испитувањето на Scheifele и сор.¹⁰². Студијата на Mehrotra и сор., демонстрира дека brush биопсијата како метод е сензитивен и специфичен и за "минимално суспектни лезии" но и за "сомнителни лезии" и го прави ефикасен тест за проценка на цел спектар на лезии детектирани за време на скринингот на орален карцином¹⁰⁷.

Точноста на brush биопсијата е доведена во прашање од страна на некои автори кои пријавуваат помала сензитивност и специфичност на резултатите во споредба со оние пријавени во нашата студија^{101,103,248}. Наводните „лажно - негативни“ или „лажно - позитивни“ случаи во литературата добиени со brush биопсијата не се сигурна споредба за нејзината ефикасност наспроти скалпел биопсијата, бидејќи овие спротивни параметри, кои се цитираат постојано во литературата имаат сомнителна вредност^{70,86}. Едно објаснување за добивање различни - дискрепантни резултати во литературата при изведување на brush биопсијата и хируршката биопсија е изведувањето во широк временски опсег, често пати по месеци или повеќе од една година. Во рамките на дадена орална лезија, дисплазијата е мултицентрична и затоа ако двете биопсии не го обработуваат истиот дел од диспластичната лезија, резултатите честопати ќе бидат несоодветни. Понатаму, биолошката природа на лезијата може да се промени со текот на времето бидејќи бенигните лезии можат да станат диспластични, но и дисплазијата исто така, може да не прогредира. Ваквиот можен недостаток во студиите, кој честопати е пријавен во литературата^{216,249}, ние во нашето истражување го избегнавме на тој начин што и двете методи, brush биопсијата и хируршката биопсија кај секој пациент ја изведувавме истовремено - последователно и на иста локализација.

Во согласност со високата сензитивност која ја постигна ОББ методот во нашето испитување е и вредноста објавена од Svirsky и сор., кои ги анализирале резултатите од хируршките биопсии со наодите од brush биопсија¹¹⁰. Споредбата на 80 пациенти кои биле подложени на обете техники, brush биопсија и хируршка биопсија, откриле дека техниката на brush биопсија бележи сензитивност од 92%. Аспектот што проценката на пациентите била

изведувана од општи стоматолози кои го извршиле првичниот преглед и brush биопсијата е важен затоа што дизајнот на студијата подобро ја одразува вистинската употреба на овој метод во праксата. Голема слабост на оваа студија, е вклучувањето на несоодветен број пациенти од Класа I (сомнителни лезии) што очигледно би ги намалило пресметките на сензитивност, специфичност и што е најважно, позитивната предиктивна вредност и ја ограничуваат користа од оваа студија.

Пониски резултати за сензитивност и специфичност бележат Poate и сор., во ретроспективната студија на 112 пациенти со клинички наоди кои укажувале на малигнитет¹⁰¹. На сите пациенти со позитивен наод од brush биопсијата им била предложена и хируршка биопсија, а само 15 од 75 лезии кои добиле негативен наод на brush биопсија, биле подложени на хируршка биопсија. Пријавена е сензитивност од 71%, специфичност од 32% и позитивна предиктивна вредност од 44%. Уште поважно, авторите откриле дека 6 од 15 случаи со негативна brush биопсија презентирале дисплазија или карцином потврден со хируршка биопсија, при што се потенцира потенцијалот за лажно негативни резултати коментирани од други автори^{103,104,110}.

Со цел да ги евалуираме дијагностичките вредности на сите четири испитувани методи кај групата (N2) испитаници со орални лезии високо суспектни за карцином, направивме компаративна анализа, каде на графикон 21 се прикажани ROC – кривите од сите испитувани методи кај оралните лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК). Резултатите од тестот на сензитивност и специфичност, како и ROC – кривите покажуваат дека методот на Brush биопсијата и виталното ткивно боене со Толуидинско сино, имаат подеднаква дијагностичка вредност со постигнати 93,33%. Значајна е и дијагностичката вредност на конвенционалното орално испитување чија вредност изнесуваше 90% додека додека Velscore методот при дијагностицирање на оралните карциноми со точност од 86,67%, има помала дијагностичка вредност.

Од статистичките анализите кои ние ги спроведовме јасно произлегува фактот дека **конвенционалниот орален преглед (КОП) во комбинација со скрининг методот на Brush биопсијата и со виталното боене со Толуидинско сино бележат подеднаква ефикасност**

во дијагностицирањето на оралните лезии со високо суспектен потенцијал за малигнитет – орален карцином.

Резултатите кои ние ги добивме кај третата испитувана група (N3) - пациенти со орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување, откриваат дека наодот од патохистолошката анализа беше позитивен кај сите 30 (100%) лица. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за brush биопсија методот, сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот со рецидив ќе биде правилно класифициран со brush биопсија методот изнесува 100%. (Табела бр. 23 и 23А, Графикон бр. 28) На табела бр. 23А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на методот Brush биопсија, со интервал на доверба од 95% (CI = 95%).

Екстремно високите процентуални вредности за специфичноста на методот brush биопсија, како и неговата точност, го позиционира овој метод високо при изборот на скрининг метод за пациенти од оваа испитувана група (N3). Вредноста која ја добивме за сензитивност на методот е иста споредена со вредноста кај групата N1 и N2 каде сензитивноста изнесуваше $Se=100\%$, што укажува на висока сигурност при дијагностицирањето на оралните промени кај сите три групи пациенти: со орални потенцијално малигни лезии, со лезии со високо суспектен потенцијал за малигнитет - орален карцином, како и кај пациенти со претходно постоечки лезии. Точноста на методот brush биопсија кај третата испитувана група бележи највисока вредност од 100% во однос на двете претходни групи, чија точност изнесуваше 93,33%, со што ја истакнува можноста пациентите од групата N3 да бидат најправилно класифицирани.

Во два неодамнешни прегледи за евалуација на помошните средства во дијагностицирање на оралниот карцином, Patton и сор. и Lingen и сор., заклучуваат дека врз основа на до тогаш објавените студии, докажано е дека brush биопсијата е вреден метод кој може да заземе место во процедурите за откривање на клеточна дисплазија и орален карцином при проценка на клинички сомнителни орални лезии^{86,70}. Меѓутоа двете групи сугерираат дека

точноста на brush биопсијата за тестирање на „минимално сомнителни“ лезии сè уште не е утврдена.

Во друга студија на Holmstrup и сор., степенот на дисплазија утврден при хируршка биопсија врз 101 орална лезија била компарирана со резултатите од целиот примерок испитуван во пресеци, при што истородна компарабилна дијагноза е постигната во само 49% од случаите ²⁴⁹. Како што наведуваат и други автори, кога се прават споредби помеѓу кои било техники на биопсија т.е. brush биопсија со хируршка биопсија или хируршка биопсија со хируршка биопсија, само студии кои ги споредуваат резултатите од двете биопсии извршени во исто време и од истиот дел од сомнителната лезија, треба да се сметаат за валидни ^{97,250}. Во студии во кои оралната лезија истовремено била тестирана и со brush биопсија и со хируршка биопсија, докажано е дека brush биопсијата достигнува сензитивност и специфичност поголема од 90%. За целите на утврдување на специфичност, се претпоставува дека кога brush биопсијата детектира дисплазија или карцином што не ги потврдува хируршката биопсија, ваквите случаи се класифицираат како „лажно позитивни наоди“ добиени при brush биопсијата. Иако патохистолошката верификација е стандард за дијагностицирање, како и кај сите лаборатории за хистопатологија, хистолошките примероци не се без грешки, па се појавуваат лажно позитивни и лажно негативни наоди ¹¹⁰. Во прилог на веродостојноста на добиените резултати при brush биопсиите говори студијата, каде овој метод и хируршката биопсија биле изведени истовремено, па авторите известуваат за неколку лажно негативни наоди во идентификувањето на дисплазија, но сепак, сите карциноми биле детектирани по пат на brush биопсија ²⁴⁰.

Високата позитивна предиктивна вредност (PPV) во нашата студија е во согласност со други објавени студии ^{100-102,110,251} и е во спротивност со резултатите од студијата на Vhoopathi и сор. ²⁵², кои пријавиле ниска PPV. Како стандард што се користи за да се утврди адекватноста на примерокот, кој води до добивање точен и недвосмислен резултат е присуството и бројот на базални клетки во примерокот за brush биопсија, кој е детектиран компјутерски како и од страна на патолог.

Дијагноза на висок степен на дисплазија е воспоставен предвидлив маркер за малигна трансформација ²⁵³. Спротивно на тоа, потенцијалот за прогресија на дисплазија од понизок

степен до ОСЦК може подобро да се предвиди со комбинација на хистопатолошки и молекуларни анализи. Со оглед на големиот број на видливи и препознатливи орални епителни лезии со поголем или помал малигнен потенцијал кои се среќаваат во клиничката пракса, од кои повеќето веројатно се бенигни, идентификувањето на оние што не се бенигни е клучно. Молекуларните и генетските промени може да претходат и кај клинички и микроскопски морфолошки промени и може да бидат присутни во хистолошки бенигни ткива. Цитолошката анализа на клетките од оралниот епител која е неагресивна техника и е добро прифатена од пациентите и понатаму останува преферабилна опција за рано дијагностицирање на оралниот карцином, вклучувајќи епителна атипија и ОСЦК со сензитивност од 90% и 3% специфичност ¹⁰⁴.

7.4. VELscope имиџинг систем

За разлика од ткивните промени на други локации на телото, суптилните промени за цитолошките абнормалности кај оралната мукоза потешко се откриваат ²⁵⁴. Методите и алатките кои ги подобруваат дијагностичките способности на стоматолозите и лекарите во примарната здравствена заштита, кои се помалку инвазивни од биопсиите и се подобри од интервентните испитувања или снимања во секундарната здравствена заштита, остануваат важни сегменти за истражување во оваа област ¹¹¹.

Употребата на автофлуоресценцијата како дијагностичка алатка за откривање на карциноми за прв пат е опишана уште во 1924 година и била под интензивна евалуација уште 30 години подоцна ¹¹¹.

Пред околу 30 години, било забележано дека автофлуоресценцијата на ткивата (ткивна флуоресценција) претставува потенцијален начин, кој може да се искористи за откривање на промени кај ткивата кои се невидливи со голо око. Од тие причини значително се зголемува интересот за технологиите на флуоресцентно снимање и спектроскопија во скрининг на карциномите на голем број анатомски локации, вклучувајќи ја и усната празнина ²⁵⁵⁻²⁶⁷. Флуоресцентната спектроскопија вклучува изложеност на ткивата на

ексцитација на различни бранови должини, така што може да се идентификуваат суптилни разлики помеѓу нормалните и абнормалните ткива. Спротивно на тоа, флуоресцентното снимање вклучува изложеност на ткивото на специфична бранова должина на светлина, што резултира со автофлуоресценција на клеточните флуорофори по ексцитацијата. Присуството на клеточни промени ќе ги промени концентрациите на флуорофорите, што ќе влијае на расејувањето и апсорпцијата на светлината во ткивото и ќе резултира со промени во бојата што може визуелно да се набљудува. Неколку неодамнешни литературни прегледи ги нагласуваат силните страни но и слабостите на флуоресцентното снимање и спектроскопијата за детекција на орален карцином ²⁶⁸. Врз основа на достапните податоци, утврдено е дека и снимањето и спектроскопијата се одлични при разликување на здравото од малигното ткиво. Сепак, била поставена тезата дека флуоресцентното снимање најверојатно ќе биде далеку покорисно во откривањето на нови лезии отколку спектроскопијата, бидејќи не е можно да се скенира целата усна празнина со помош на малите оптички влакна потребни за изведување на методот со спектроскопија. Компјутерски генерирани алгоритми засновани на разлики помеѓу флуоресцентниот спектар може да ја разграничат нормалната мукоза од диспластично и канцерогено ткиво со висока сензитивност и специфичност ²⁶⁹⁻²⁷¹. Овие оптички пристапи кон орална дијагностика се ветувачки и треба да бидат дополнително истражувани.

Употребата на концептот на ткивна автофлуоресценција при скрининг и дијагноза на преканцерозни лезии во белите дробови, грлото на матката и кожата е добро документирана. Овој пристап е веќе во клиничка употреба кај белите дробови, а механизмот на дејствување и интеракција на ткивната автофлуоресценција е добро опишан кај грлото на матката ^{272,273}.

Автофлуоресценцијата е феномен во кој се користи надворешен извор на светлина за да се ексцитираат ендогените флуорофори, како што се одредени аминокиселини, метаболни производи и структурни протеини ²⁷³. Користењето на концептот на ткивна автофлуоресценција за дијагностицирање на диспластичните лезии во усната шуплина зависи од промените во структурата и метаболизмот на епителот и субепителната строма. Во рамките на оралната мукоза, најрелевантните флуорофори се никотинамид аденин

динуклеотид (NAD) и флавин аденин динуклеотид (FAD) во епителот и стромалниот колаген²⁷⁴. Флуорофорите апсорбираат фотони од егзогениот извор на светлина и испуштаат пониско енергетски фотони кои клинички се презентираат како флуоресценција. Секој флуорофор е поврзан со специфични бранови должини на екситација и емисија. Се верува дека губењето на автофлуоресценцијата кај диспластичните и канцерогените ткива се рефлектира во сложена композиција на промени во внатрешната дистрибуција на флуорофорите во ткивата, поради ремоделирање во ткивата, како што е распаѓањето на колагениот матрикс и составот на еластинот. Консеквентно настануваат промени во метаболизмот, што се одразува со намалувањето на концентрацијата на FAD и зголемување на редукционата форма на NAD поврзан со прогресија на болеста¹²²⁻¹²⁴. Покрај тоа, овие структурни промени во ткивната морфологија се асоцирани со промени не само во епителот, туку и во lamina propria (на пример, задебелување на епителот, концентрирање на хиперхроматин и зголемен клеточен/нуклеарен плеоморфизам или зголемена микроваскуларност). Последните промени доведуваат до зголемена апсорпција и/или расејување на светлината, што пак го намалува и модифицира сигналот за автофлуоресценција што може да се детектира¹²⁵. Покрај тоа, и некои вообичаени состојби, како што се мукозни пигментации, улцерации, иритации и гингивитис, покажуваат загуба на флуоресценција²⁷⁵. Хемоглобинот исто така може да ја намали т.е. маскира флуоресценцијата. Ако за време на директната визуелизација се појави темна област, оралната лезија мора да се смета за сомнителна и клиничкиот преглед треба да се повтори со примена на одреден притисок за да се отстрани крвта од целната област. Ако нормалниот зелен појас, очекуван како одговор на ткивната флуоресценција, се врати по овој притисок, лезијата веројатно има воспалителна компонента²⁰⁹. Покрај тоа, Kois и Truelove предложиле позитивните лезии да бидат проследени со голема претпазливост; ако не исчезнат во рок од две недели, се препорачуваат дополнителни проценки и ткивна биопсија²⁷⁶. Во секој случај, резултатите треба да се толкуваат со претпазливост, имајќи ја предвид честата појава на лажно позитивни резултати.

Ин витро студиите покажаа намалување на автофлуоресценцијата кај оралната епителна дисплазија, како и кај мукозните воспаленија^{274,277}. Прелиминарните истражувања

укажуваат дека автофлуоресценцијата е соодветно дополнување на КОП во раното откривање на оралните потенцијално малигни заболувања и оралниот сквамозно целуларен карцином ^{127,189,278-281}.

И покрај распространетата примена на докажаните уреди кои го користат принципот на автофлуоресценција на ткивата или рефлексija при скрининг за ОСЦК, постојат ограничени податоци за поддршка на нивната употреба. Клиничкото испитувањето со бела светлина (КОП) и хистопатолошката верификација остануваат златен стандард за рано откривање на малигномите во усната празнина. Сепак, КОП останува субјективен и дискутабилен пристап. Развиени се неколку неинвазивни модалитети за скрининг врз база на флуоресценција за подобрување на стапките на рано детектирани малигни промени во устата. Овие технологии се движат од уреди што бараат директен контакт со испитуваното ткиво, како што се фиброоптичките спектрометри ²⁸² и оптичка спектроскопија сензитивна на длабочина ²⁸³ до скрининг на широки регии по пат на автофлуоресценција со помош на средства (алатки) за визуелизација, како што се VELscope системот и Identafi ^{92,105}.

Во изминатата деценија биле развиени неколку форми на автофлуоресцентна технологија за инспекција на оралната мукоза. Во партнерство со Агенцијата за канцер на Британска Колумбија, LED Medical Diagnostics Inc, на пазарот го пласира рачниот VELscope систем. VELscope е преносен уред кој овозможува директна визуелизација на усната празнина и се препорачува за скрининг на орален карцином. Под интензивна сина екситација со бранова должина од 400-460 nm обезбедена од страна на уредот, нормалната орална слузокожа испушта бледо зелена автофлуоресценција кога се гледа преку селективниот и тесно опсежен филтер инкорпориран во инструментот. Правилната филтрација е важна, бидејќи интензитетот на рефлектираната сино-бела светлина би оневозможило да се визуелизира тесниот автофлуоресцентен сигнал. Спротивно на тоа, абнормалните или сомнителните ткива ја губат флуоресцентната емисиона моќ поради нарушување на дистрибуцијата на флуорофорите и се гледаат потемни во споредба со околното здраво ткиво ^{70,127,128,144}. Главната критика на автофлуоресценцијата кај дијагностиката на канцерот е недостатокот на способност за разграничување на лезии со висок ризик од лезии со низок ризик ¹¹¹. Две неодамнешни студии истакнаа дека употребата на овој систем за рана

дијагноза е дискутабилна. Една студија покажала дека испитувањето со VELscope не обезбедува дефинитивна дијагноза во врска со присуството на епителна дисплазија и дека губењето на автофлуоресценцијата не е корисно во дијагностицирањето на епителната дисплазија без релевантно клиничко толкување ¹²⁹. За разлика од неа, другата студија покажала дека VELscope е корисен во потврдувањето присуство на орални нарушувања од типот на леукоплакија и еритроплакија како и други и нарушувања на оралната мукоза, но уредот не бил во можност да ги разграничи високоризичните лезии од оние со низок ризик ¹¹¹.

Меѓу првите студии кои го користат овој уред, е онаа на Lane и сор., кои ја истражуваат способноста на VELscope да ги идентификува преканцерозните или канцерозни лезии ¹²⁷. Студијата се состоела од 44 пациенти со историја на орална дисплазија или ОСЦК. По конвенционалниот орален преглед (КОП), усната празнина била прегледана со VELscope за да се идентификуваат областите кои би покажале загуба на автофлуоресценцијата. Покрај тоа, биле изведени и патохистолошки анализи на лезиите. Користејќи ја хистологијата како златен стандард, уредот покажал 98% сензитивност и 100% специфичност за разграничување на дисплазија и канцер од нормалната орална лигавица. Главната сила на оваа студија е дека резултатите од уредот директно се споредуваат со соодветниот златен стандард – хируршка биопсија, а исто така е охрабрувачки и високиот степен на сензитивност и специфичност. Но, студијата има и многу слабости, во прв ред, големината на примерокот ($n = 44$) која е релативно мала, меѓутоа што е многу поважно, поголемиот дел од лезиите вклучени во студијата се чини дека се класа I (сомнителни) лезии.

Втората студија објавува три неконсекутивни репрезентативни случаи во кои клинички невидливи лезии биле идентификувани со употреба на VELscope ¹²⁸. Секој од случаите покажал потенцијално поинаква употреба на оваа технологија врз основа на клиничкиот наод: почетна дијагноза на дисплазија, рекурентен канцер, и втор примарен тумор. Главната сила на овој прелиминарен извештај е демонстрацијата дека VELscope може да биде способен да ги идентификува лезиите кои не можат да се видат со нормална (блескава) светлина. При екситација со уредот VELscope, нормалната мукоза емитира

бледо зелено светло, додека абнормалната слузница се презентира како темна зона. Првичните докази покажуваат дека VELscope може да биде корисен и како адјувантна метода за одредување на границите на туморот за време на хируршките процедури, како и техника за скрининг, за да се идентификуваат премалигните лезии кои не се визуелизирани за време на конвенционалното испитување^{70,86}.

Потврда за улогата на флуоресцентната визуелизација при откривање на хируршките граници на оралниот карцином, за време на самиот хируршки третман во операциона сала презентираат резултатите од една мала студија, каде загубата на автофлуоресцентност се протежала на 25 mm подалеку од видливиот тумор и дека 89% од ткивото што последователно е ексцидирано во овие региони покажало или дисплазија или карцином¹²⁶. Студијата сугерира дека VELscope може да биде корисен како вистински модел за скрининг на орален карцином со идентификување на лезии кои не може да се видат само со КОП. Исто така, тие добиле задоволителен резултат од наодот на VELscope компариран со наодот од хистопатолошката анализа. Суптилните промени во целуларноста и крвниот проток кај раните стадиуми на оралниот карцином се основа за развој на скрининг стратегии базирани на светлина, за подобрување на дијагностичките можности при рутинското испитување.

Ние во нашата студија ја имавме привилегијата за прв пат во нашата држава да го воведеме методот за дијагностика на оралните потенцијално малигни заболувања и орален карцином базиран на автофлуоресценција со користење на VELscope системот.

По употребата на Velscope методот кај испитуваната група (N1) - испитаници со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози, беше направена патохистолошка верификација, со што 14 пациенти беа класифицирани како позитивни, од кои 12 беа вистина позитивни, 2 беа лажно позитивни, 12 лица лажно негативно и 4 лица беа класифицирани како точно негативни. Анализата покажа дека кај групата испитаници со преканцерозни лезии, за Velscope методот, сензитивноста изнесува 50%, специфичноста достигна до 66,67%, позитивната предиктивна вредност е 85,71%, а негативната предиктивна вредност изнесува 25%. Точност, односно, општа веројатност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Velscope методот изнесува 53,33%. (Табела бр. 15 и 15А

и Графикон бр. 15 и 15A) На табела бр. 15A се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на VELscope методот, заедно со долната и горната граница на интервалот на доверба од 95%, а на графикон бр. 15A е дадена ROC – кривата.

Нашите резултати се во спротивност со резултатите од Awan и сор. и Rana и сор., чии вредности се повисоки и се движат од 95% за сензитивноста и 77% за специфичноста на методот ^{111,138}. Lane и сор., во 2006 година при диференцијацијата помеѓу нормалната и променетата слузница, добиваат висока вредноста на сензитивност од 98%, а вредноста на специфичност била 100% ¹²⁷.

Во своето истражување Farah и сор., клинички со VELscope испитувале 44 случаи кои и хистолошки ги верифицирале, по што добиле највисоки вредности за сензитивност од 100% и специфичност од 96% ¹³³.

Sawan и Mashlah презентираат сензитивност која е повисока и не соодветствува на вредноста која ние ја добивме во нашето истражување ¹³⁰. Околу 9,4% од откриените лезии биле абнормални лезии и кај 83,09% постоело губење на ефектот на флуоресцентна светлина. Врз основа на користењето на хируршката биопсија, VELscope методот прикажал сензитивност од 74,1% и специфичност од 96,3%. Според статистичката анализа, со ниво на доверба од 95%, постоела значајна согласност помеѓу резултатите на VELscope и резултатите од биопсијата.

Rana и сор., укажуваат дека прегледот со VELscope може да помогне да се идентификуваат диспластични лезии, но не можат со сигурност да се разликуваат бенигни орални лезии како што се воспаление или орален лихен планус од малигни лезии ¹³⁸. Обесхрабувачки е што 64,23% од испитуваните лезии покажале загуба на флуоресценција, додека само 4,88% од лезиите може да се идентификуваат како дисплазија. Ова може да доведе до “предозирана” дијагноза доколку VELscope се користи од страна на нестручни лица. Според нивното искуство, наодите на VELscope се многу субјективни, а и клиничкото искуство и обуката се неопходни за да се постигнат добри резултати со тестот. Во истата студија, релативно ниската специфичност на уредот довела до прилично голем број на лажно-позитивни резултати (26 пациенти со 32 биопсии), иако бил применет строг протокол на

селекција пред испитувањето со методот со автофлуоресценција. Резултатите од лажно позитивните наоди не само што ги плашат пациентите, туку и ги зголемуваат ризиците од морбидитет поради непотребна биопсија. Вредноста која авторите ја презентираат за сензитивност изнесува максимални 100%, додека специфичноста достигнува 74%. Овие вредности се повисоки од оние кои ние ги презентираме во нашето истражување, но сличен заклучок во контекст на вредностите на Rana и сор.¹³⁸, изнесува Balevi во неговата ажурирана студија²⁸³. Високата стапка на лажно позитивни резултати од тестот е истакната и од Scheer и сор.¹⁴⁵. Постојат неколку студии кои ја поддржуваат можноста на VELscope да идентификува области на дисплазија^{70,86}. Затоа, авторите го препорачуваат овој уред како неинвазивен тест и соодветен додаток при скринингот за орален карцином. Различни студии го истакнуваат VELscope како одлична водилка и ориентир кон следниот чекор-детектирање на вистинската локација за хируршка биопсија²⁷⁶. Сепак, неговите резултати треба внимателно да се толкуваат, а воспоставување добар протокол за испитување и прецизна документација се многу важни сегменти за да се намалат лажно-позитивните резултати.

Paderni и сор., докажуваат статистички значајна корелација помеѓу присуството на дисплазија (блага и умерена/напредната) и позитивните резултати од скринингот со VELscope како и помеѓу постоењето на лезија со висок ризик наспроти загуба на флуоресценцијата²⁸⁴. Сепак, оваа студија презентира релативно ниски вредности на сензитивност, што укажува на тоа дека VELscope има одредена веројатност да дава лажно негативни наоди. Ова е големо ограничување во примената на овој уред како алатка за скрининг кај популација со „висок ризик“, бидејќи не може секогаш да идентификува лезии со дисплазија, особено кај раната лесна дисплазија, што претставува хистолошка промена која би можела да биде првиот чекор при карциногенезата. Сепак, вредностите за специфичност се високи, што укажува на тоа дека VELscope има мала веројатност да даде лажно позитивни наоди. Пријавените вредности на NPV се екстремно високи, но тие се засегнати од преваленцата кај популациите со висок ризик, како на пример кај испитуваниот болнички примерок од група хоспитализирани пациенти, каде фреквенцијата на лезиите е поголема од таа кај општата популација. Пронајдена е статистички значајна

корелација помеѓу присуството на дисплазија и загубата на флуоресценција на ткивата. Ниски вредности на сензитивност од 60% и 71% се забележани во диференцијацијата на лесна дисплазија наспроти недостаток на дисплазија и умерена/тешка дисплазија наспроти отсуство на дисплазија, соодветно. Специфичноста и вредностите на точност на дијагностиката при детекција на сите ОПМЛ со дисплазија наспроти непроменети лезии биле 97,4% и 91,1%, соодветно. Вредностите за сензитивност, специфичност и дијагностичка точност при класифицирање на ОПМЛ со „висок ризик“ наспроти „низок ризик“, бележат вредности од 75%, 92,3% и 90,5% соодветно ²⁸⁴.

Врз основа на пријавените вредности на сензитивност, специфичност и дијагностичка точност, авторите сметаат дека Velscore системот не може целосно да ја замени постапката за хистопатологија, што сепак претставува златен стандард за дефинитивно дијагностицирање на ОПМЛ или нивно исклучување. Наместо тоа, оваа неинвазивна алатка треба да се смета како дополнително средство како со КОП, така и со хистопатолошката проценка за време на дијагностицирањето и мониторинг ²⁸⁴. Само неколку испитувања ја забележаа способноста за автофлуоресценција како дијагностичка алатка кај клинички неалтерирани мукоза, но резултатите се занемарливи поради многу нискиот број на случаи ^{92,133,135,136}. Спротивно на тоа, постојат неколку студии, кои ја нагласуваат способноста на уредот да ги идентификува областите на дисплазија ^{127,137}. Сè на сè, неодамнешните студии покажале компарабилни податоци кај високоризичните групи со висока сензитивност и релативно ниска специфичност ^{111,138}. Овој недостаток на специфичност останува постојан проблем во клиничката рутинска употреба и исто така е еден од главните недостатоци на сите студии ^{70,86,111,126}.

За придонесот на VELscope системот при дијагностицирање на потенцијалните орални малигни лезии, укажуваат Matsomoto и сор., кои испитувале 74 случаи, при што за 37 од нив потврдиле малигнитет, а останатите биле бенигни ¹³². Тие заклучуваат дека VELscope е добра помошна алатка во откривањето на промените во ткивата. Спротивно Ardore и сор., не го поддржуваат користењето на VELscope кај суспектни лезии, бидејќи сензитивноста била 87,1%, а специфичноста 20% ¹³⁴. Ова опаѓање може да се должи на тоа што клиничкиот

преглед бил комбиниран со употребата на VELscope. Тие забележале губење на флуоресцентен ефект кај бенигните лезии како варикозитети на јазикот и пигментации.

Значајно повисоки вредности од нашите, презентираат Garg и Karjodkar во својата студија, каде VELscope достигнал 98% сензитивност и 100% специфичност за разграничување на дисплазијата и карциномот од нормалната орална мукоза, користејќи ја хистологијата како златен стандард ²⁸⁵.

Споредено со сензитивноста на хистопатолошкиот преглед кај пациенти со идентификувани диспластични лезии од висок степен и ОСЦК, пријавената сензитивност на ткивната автофлуоресценција со технологијата VELscope како додаток на визуелниот преглед биле 98% и 100%; специфичноста била 100% и 78%; PPV биле 100% и 66%; и NPV биле 86% и 100%, соодветно ^{126,127}. Овие вредности презентирани во студијата на Patton и сор., ги надминуваат нашите резултати и претставуваат поттик за дополнителни истражувања со VELscope методот како надежен и сеуште неисцрпен метод кој има голем дијагностички потенцијал ⁸⁶.

Широк опсег на вредности за измерена сензитивност од 30% до 100% и специфичност од 15% до 100% пријавуваат Poh и сор., Balevi и сор., Patton и сор., Trullenque-Eriksson и сор., Mehrotra и сор., Moro и сор., Awan и сор., Fricain и сор., Lopez-Jornet и De la Mano- Espinosa, Scheer и сор., Farah и сор., Marzouki и сор., Bhathia и сор. ²²⁰.

Голем број од изведените студии носат заклучок дека VELscope може да му помогне на искусниот терапевт да пронајде прекурсор на оралните малигни лезии ^{138,188,192}.

Повеќемина автори го истакнуваат позитивното влијание на VELscope системот кога се комбинира со други методи на испитување на оралните потенцијално малигни лезии. Trullenque-Eriksson и сор., објавуваат компаративна студија помеѓу различни техники за рана детекција на интраоралните лезии со употреба на ViziLite и brush биопсија со OralCDx тестот, како и со употреба на VELscope ¹³¹. Добиле вредности за сензитивност од 98-100% и специфичност од 94-100% што значајно го подобриле дијагностичкиот исход при истражувањето. Дека автофлуоресценцијата успешно го надградува конвенционалниот орален преглед, говорат истражувањата на Kulapaditharom и Boonkitticharoen, како и Betz и сор., кои укажуваат дека автофлуоресцентниот имиџинг може значително да ја подобри

сензитивноста и специфичноста на методот ^{286,287}. Jayaprakash и сор., исто така го надополнуваат КОП со методот на директна флуоресцентна визуелизација, по што заклучуваат дека испитувањето ја подобрува можноста за детекција на лезии со висок ризик или орален карцином, со сензитивност од 75% за високоризични лезии и 100% за орален карцином, што е во согласност со нашето истражување ²⁸⁰.

Иако, претходни извештаи од познати експерти ја идентификуваат ползата од оваа технологија за проценка на дотогаш познати орални лезии, ^{127,128,189,288} податоците на Sweeney и сор., сугерираат дека иницирањето на автофлуоресценција кај ткивата или рефлексно осветлување при рутинските визуелни прегледи кај пациенти со висок ризик, има многу ограничена придобивка и не ги оправдува дополнителното време или трошок поврзани со нивната употреба ¹²⁵.

Неодамнешните студии го критикуваа неуспехот на VELscope да ги разграничи лезиите со висок ризик од лезиите со низок ризик, како и неговата висока стапка на лажно позитивни резултати ^{111,144,289}. Според Huber и сор., интерпретацијата на резултатите добиени по прегледот со VELscope не придонесе ниту да се подобри или пак на друг начин да се смени клиничкото менаџирање со сомнителните лезии ²⁷⁵. Резултатите од студијата на Mehrotra и сор., укажуваат дека примената на VELscope не се покажала корисна во идентификувањето диспластични лезии или орален карцином, додека пак Koch и сор., потврдуваат дека автофлуоресценцијата може да помогне да се идентификува кој било вид патолошки орални лезии, но не можат да направи диференцијација помеѓу бенигните и малигни орални лезии ^{92,290}. Силно спротивставените резултати од авторите кои ја презентираат улогата на VELscope кај оваа група пациенти со орални потенцијално малигни лезии, наложуваат и значајно спротивставени ставови и препораки за неговата употреба. Добро е познато дека намалувањето на морталитетот и морбидитетот за ОСЦК главно зависи од препознавањето на ОПМЛ, иако се верува дека околу 50% од оралните сквамозно клеточни карциноми потекнуваат од орални потенцијално малигни лезии, но не на сите орални карциноми им претходат ОПМЛ ¹⁵⁴.

Кај втората група испитаници (N2) - пациенти со лезии со високо суспектен потенцијал за малигнитет - орален карцином, спроведовме испитување според методот

VELscope, а добиените наоди беа патохистолошки верифицирани. Резултатот добиен по патохистолошката обработка на биоптичниот материјал беше позитивен кај 28 испитаници, од кои 26 беа вистина позитивни, 2 беа лажно позитивни, а 2 лица лажно негативни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за Velscore методот, сензитивноста изнесува 92,86%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 92,86% а негативната предиктивна вредност 0%. Точност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Velscore скрининг методот изнесува 86,67%. (Табела бр. 19 и 19А, Графикон бр. 20 и 20А) На табела бр. 19А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна предиктивна вредност, негативна предиктивна вредност и точноста на Velscore методот со интервалот на доверба од 95% (CI = 95%), а на графикон бр. 20А е дадена ROC – кривата.

Вака добиената висока вредност за сензитивност која изнесува 92,86%, и точност на методот од 86,67% во голем дел ја потврдува веродостојноста и ефикасноста на Velscore методот кај пациенти со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК), за разлика од вредностите кои ги добивме кај првата група испитаници (N1). Кај групата (N1) - испитаници со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози, овие вредности беа пониски, со измерена сензитивност од 50%, и точност на методот од 53,33%, што го прави овој метод преферабилен за употреба кај пациенти класифицирани во втората група (N2).

Нашите резултати се во согласност со оние на Marzouki и сор., кои во проспективна студија утврдуваат речиси идентична сензитивност од 92% ¹⁴⁶. Авторите заклучуваат дека VELscope претставува корисна дијагностичка алатка особено кај пациентите со висок ризик.

Висока сензитивност од 94,44% со примена на VELscope системот која е во согласност со нашите вредности презентираат Sanjau и сор., при диференцирање на нормална мукоза од карцином или од инвазивен карцином, компарирано со патохистолошка верификација ³³². Предиктивната позитивна вредност изнесува 100%, а негативната предиктивна вредност е 50%, при интервал на доверба од 95% (CI). Тие заклучуваат дека флуоресценцијата овозможува едноставно и економично определување на маргините на лезиите, со цел да се изврши откривање и скрининг на орални преканцерозни и рани карцинозни нарушувања. Откриваат дека системот VELscope не може целосно да ја замени постапката

за хистопатологија, меѓутоа студијата ја демонстрира својата корист при клиничкиот преглед, следење на оралните лезии и водење на биопсијата. Затоа, овој метод може да ја зголеми сензитивноста на прегледот на оралното ткиво и да биде ефикасна алатка кај пациентите со висок ризик.

Роh и сор., во својата вкрстена студија од 2006 година, испитувајќи 122 субјекта суспектни за ОСЦК, нотираат сензитивност од 97% и специфичност од 94% употребувајќи го VELscope како дијагностичка алатка ¹²⁶. Овие вредности во голема мера корелираат со вредностите на бројни автори, вклучувајќи ги и резултатите кои ние ги добиевме, особено за измерената сензитивност, иако целосно спротивни вредности добивме за специфичноста. Блиски вредности со претходните објавуваат Мого и сор., во својата проспективна студија од 2010 година, испитувајќи 32 субјекти суспектни за ОСЦК, кои добиваат вредност за сензитивност од 100% и 93% специфичност ²⁹².

Наспроти до сега презентираниите резултати од горе наведените автори, Mehrotra и сор., презентираат целосно спротивни резултати за 156 испитаници во својата вкрстена студија од 2010 година, кои изнесуваат 50% за сензитивност и 38,9% за специфичност ⁹².

Особено ниски вредности за специфичноста на овој метод, кои силно корелираат со нашите резултати, презентираат Koch и сор., во својата проспективна студија од 2010 година, каде со 15% најмногу се доближуваат до нашата добиена вредност од 0% ²⁹⁰. Сензитивноста целосно се поистоветува со нашите резултати во износ од 93% и претставува уште еден адут во поддршката на овој помошен дијагностички метод.

Babiuch и сор., во својата студија откриваат дека автофлуоресценцијата не е особено специфична за детекција на орален карцином, што го поткрепуваат со ниските измерени вредности од 12,5% со што уште повеќе се доближуваат до нашите резултати во однос на специфичноста на методот кога се работи за високо суспектни лезии-орален карцином ²⁸⁹.

Paderni и сор., при скринингот со VELscope кај 96,42% од случаите класифицираат 27 од 28 лезии како позитивни, кои патохистолошката анализа ги потврдува како ОСЦК, при што откриен е само 1 лажно негативен наод ²⁸⁴. Според мислењето на авторите врз основа на пријавените вредности за сензитивност, специфичност и дијагностичка точност, уредот Velscope не може целосно да ја замени постапката за хистопатологија, која сепак

претставува златен стандард за поставување дефинитивна дијагноза на ОПМЛ или ОСЦК. Наместо тоа, оваа неинвазивна алатка треба да биде дополнителен уред и на конвенционалното визуелно испитување и на хистопатолошката проценка за време на дијагностицирањето и мониторингот.

Неколку неодамнешни студии сугерираат дека VELscope може да се користи како дополнување на визуелниот преглед за да се подобри откривањето на орална неоплазија^{126,293,294}. На пример, Paulis сугерира дека VELscope им обезбедува насоки на стоматолозите во откривање на оралниот карцином, забележувајќи дека иако може да даде некои лажно-позитивни наоди, тоа е уред за скрининг, а не конечна дијагностичка алатка¹³⁹. Сепак, иако се забележани ветувачки резултати, повеќето од овие студии се ограничени на мал број пациенти во високо превалентна популација. Повеќемина автори во нивните истражувања ја истакнуваат потребата од дополнителни испитувања за да се оцени ефикасноста на VELscope во општата пракса^{70,86,109,131,140-143}. Balevi истакнува дека потенцијалот за лажно позитивни резултати може непотребно да предизвика стрес и страв кај пациентите и да го зголеми морбидитетот и трошоците на пациентите кога се користи во секојдневната пракса како рутинска скрининг алатка¹⁴⁴.

Дијагностичката точност на VELscope при откривање на дисплазија и ОСЦК сеопфатно е испитувана во специјалистички референтни центри, со пријавена сензитивност која се движи од 30% до 100%^{120,133,138,145,146}. И покрај големиот опсег на вредности, некои студии забележале дека VELscope помогнал да се откријат диспластични лезии пропуштени со КОП^{133,146}. Поради овие причини, VELscope се чини дека е важна алатка за следење на пациенти со историја на карциноми на главата и вратот.

Во нашето истражување, користејќи го Velscope методот кај групата (N3) т.е. пациенти со орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување, 29 пациенти од испитуваните 30, беа класифицирани како позитивни, а 1 пациент како негативен. Статистичката анализа покажа дека кај оваа група испитаници со орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување (N3), за Velscope методот, сензитивноста изнесува 95,83%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот од оваа испитувана

група ќе биде правилно класифициран со Velscore методот изнесува 95,83%. (Табела бр. 23 и 23А, Графикон бр. 29) На табела бр. 23А се дадени вредностите на сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност, како и точноста на Velscore методот при интервал на доверба од 95% (CI = 95%).

Вредностите за сензитивност на методот VELscore, споредени кај сите 3 испитувани групи пациенти, бележат највисок процент од 95,83% кај групата (N3), нешто пониска вредност со износ од 92,86% кај групата (N2) и најнизок износ од 50% кај групата (N1).

Највисока вредност за точност, т.е. очекување дека овој метод најсоодветно би го детектирал суспектното место во оралниот кавум, треба да очекуваме кај групата (N3), т.е. пациенти со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви. Висината на износот од 95,83% го позиционира VELscore методот како приоритетен избор кај оваа група пациенти.

Високите вредности за сензитивност на методата кои ги добивме кај групата (N3), се во согласност со резултатите од испитувањето на 50 биопсии направени од области со загуба на флуоресценција, кои презентираат сензитивност од 98% и прават дистинкција помеѓу степените на дисплазија, Ca in situ и инвазивниот карцином, користејќи ја хистопатологијата како златен стандард. Важна придобивка од овој систем е можноста за визуелизација на флуоресценцијата, како помош на лекарите во идентификувањето на раните неопластични лезии кои првично биле пропуштени при КОП ¹²⁸. За да се одговори на потребата за објективно толкување на сликите добиени со флуоресценција, Roblyer ја проценува можноста за објективни техники за анализа за да ги препознае ОПМЛ и оралниот карцином. Користејќи флуоресцентни слики, алгоритмите може да детектираат потенцијално малигни лезии и орален карцином со сензитивност од 94% и специфичност од 87% ¹⁸⁹. Резултатите од автоматизирана анализа на дигиталните слики од автофлуоресценција, секако, мора да бидат потврдени во поголеми клинички испитувања. Нашите резултати се во спротивност со резултатите на Sweeny и сор., кои презентираат поголема специфичност од сензитивност на методот ¹²⁵. Тие ги евалуирале пациентите подложени на претходен третман на карцином на различни регии на главата и вратот. Скринингот со визуелизацијата на ткивната автофлуоресценција покажал специфичност

од 81% (95% CI, 71% -89%), сензитивност од 50% (7% -93%), ППВ од 11% (1% -35%) и НПВ од 97% (90% -100%).

Постои важна, глобална потреба од подобрување на успехот при раното откривање на оралниот карцином. Раното откривање на оралните премалигни лезии (ОПМЛ) и раните неопластични промени може да биде наше најдобро и најефективно средство за подобрување на опстанокот и квалитетот на животот на пациентите со орален карцином од сите социоекономски заедници ¹⁵. Во моментот не постои задоволителен механизам за преглед и откривање на рани неопластични промени во усната празнина кај општата популација. Можните објаснувања вклучуваат неколку карактеристики како што се постоење ограничена јавна свест и недоволна едукација на здравствените работници за факторите, знаците и симптомите за оралниот карцином; детекцијата во голема мерка зависи и од клиничкото искуство на лекарите при препознавање на сомнителни лезии при интраоралниот преглед, што честопати е со променлива ефективност ^{16,17}. Мошне често постојат тешкотии и неможност да се разликуваат ОПМЛ од почестите воспалителни состојби, а во голем број случаи пациентите не сакаат да подлежат на инвазивниот метод-биопсија, за посочените суспектни лезии. Кај пациентите можна е состојба на т.н. "поле на канцеризација", при што целата орална лигавица што е изложена на канцерогени агенси како резултат од консумирање на алкохолот и тутун, претрпува оштетување и е изложена на зголемен ризик за развој на карцином ⁹². Кај пациентите со висок ризик, честопати целата мукоза на оралната празнина е потенцијално премалигна, што им отежнува дури и на искусните клиничари да препознаат кога и каде е неопходно земање биопсија ¹⁷.

Неодамнешните достигнувања во визуелниот скрининг имаат потенцијал да го подобрат и олеснат раното откривање на оралниот карцином преку неговите прекурсори ^{296,297}. Неколку тимови од истражувачи докажуваат дека системите за скрининг што ја нотираат просторната дистрибуција на флуоресценцијата на ткивата при специфични комбинации на бранови должини наменети за екситација, може да бидат од полза при испитување на големи области на оралната слуница, како би се избегнала (или одложила) инвазивната постапка за земање биоптичен материјал и хистопатолошката анализа ^{17,77,92,100,102,185,250}. Суптилни промени на малигна клеточна алтерација во раната фаза и циркулаторните

промени се основа за развој на стратегии за светлосен скрининг за подобрување на сензитивноста и специфичноста при рутинските прегледи. Бидејќи ниту една од овие медицински алатки не е со перформанси на дијагностички тест, се додека не се направат дополнителни студии и не се добијат цврсти препораки, овие скрининг средства треба да се користат само за да се идентификуваат лезии кои можеби биле превидени со конвенционален орален преглед, а не за утврдување дали лезијата е преканцерозна или малигно алтерирана. Само дефинитивен тест кој ги испитува и констатира алтерациите на клетките или засегнатото ткиво може да го одреди биолошкото однесување на лезијата ⁹².



ЗАКЛУЧОЦИ

1

Кај испитаниците со орални потенцијално малигни лезии - преканцерози класифицирани во групата (N1), резултатот од патохистолошкиот наод е позитивен кај 24 пациенти, а негативен кај 6 лица. При конвенционалниот орален преглед (КОП) 27 пациенти се класифицирани како позитивни, од кои 22 вистина позитивни, 5 се лажно позитивни, 2 лица лажно негативни и 1 лице е класифицирано како точно негативно. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за КОП, сензитивноста изнесува 91,67%, специфичноста е 16,67%, позитивната предиктивна вредност е 81,48% а негативната предиктивна вредност изнесува 33,33%. Точност, односно, општа веројатност дека пациентите ќе бидат правилно класифициран со методот на КОП изнесува 76,67%.

2

Кај испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК), вклучени во групата N2, резултатот од патохистолошкиот наод е позитивен кај 28 пациенти, а негативен кај 2 лица. При конвенционалниот орален преглед (КОП) 29 пациенти се класифицирани како позитивни, од кои 27 вистина позитивни, 2 се лажно позитивни, а 1 лице лажно негативно. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за КОП, сензитивноста изнесува 96,43%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 93,10% а негативната предиктивна вредност 0%. Точност дека пациентите со орални лезии високо суспектни за карцином ќе бидат правилно класифициран со конвенционалниот орален преглед изнесува 90%.

3

Кај пациентите со орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви, класифицирани во групата N3, резултатот од патохистолошкиот наод е позитивен кај сите 30 (100%) лица. При КОП, односно конвенционален преглед, сите 30 пациенти се класифицирани како позитивни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група за КОП, сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот од оваа испитувана група ќе биде правилно класифициран со примена на КОП методот изнесува 100%.

4

Резултатите кои ги добивме кај испитаниците со орални потенцијално малигни лезии –преканцерози класифицирани во групата N1 со примена на методот на витално боене со Толуидин сино, 24 пациенти се класифицирани како позитивни, од кои 21 се вистина позитивни, 3 лажно позитивни, 3 лица лажно негативни и 3 лица се класифицирани како точно негативни. Анализата покажа дека кај преканцерозите, за Толуидин сино, сензитивноста изнесува 87,50%, специфичноста е 50%, позитивната предиктивна вредност е 87,50%, а негативната предиктивна вредност 50%. Точноста, односно, веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Толуидин сино методот изнесува 80%. Методот има значајна дијагностичка вредност.

5

Кај испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) вклучени во групата N2, со Толуидин сино скрининг методот сите 30 пациенти се класифицирани како позитивни, од кои 28 биле вистина позитивни, а 2 биле лажно позитивни. Анализата со тестот за сензитивност, покажа дека кај оваа испитувана група, за Toluidine сино методот сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 93,33%, а негативната предиктивна вредност е 0%. Точноста/веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Толуидин сино скрининг методот изнесува 93,33%.

6

Со методот витално боење со Толуидин сино (ТС), сите 30 пациенти од групата N3 со орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви, се класифицирани како позитивни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за Толуидин сино методот, сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот од оваа испитувана група ќе биде правилно класифициран со Toluidine сино изнесува 100%.

7

Со оралниот Brush биопсија метод, испитаниците со орални лезии за развој на потенцијално малигни заболувања - преканцерози класифицирани во групата N1, 26 пациенти беа класифицирани како позитивни, од кои 24 се вистина позитивни, 2 лажно позитивни, 0 - нема лажно негативни и 4 лица се класифицирани како точно негативни. Според тестот кај преканцерозите, за оралниот Brush биопсија метод сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 66,67%, позитивната предиктивна вредност е 92,31%, а негативната предиктивна вредност 100%. Точноста на методот, т.е. веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со орална Brush биопсија изнесува 93,33%, односно, методот има многу значајна дијагностичка вредност.

8

Кај испитаниците со орални потенцијално малигни лезии–преканцерози класифицирани во групата N1, резултатите кои ги добивме од тестот за сензитивност и специфичност, како и ROC – кривите покажуваат дека методот на орална Brush биопсија има најзначајна дијагностичка вредност (99,33%). Значајни се и дијагностичките вредности на Толуидин сино методот (80%) и КОП (76,67%), додека VELscore методот има најмала / најслаба дијагностичка вредност (53,33%). Од анализите произлегува дека КОП во комбинација со скрининг методот на оралната Brush биопсија, е најефикасен во дијагностицирањето на оралните потенцијално малигни лезии- преканцерозите.

9

Со Brush биопсија скрининг методот сите 30 пациенти од групата (N2) со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) беа класифицирани како позитивни, од кои 28 се вистина позитивни, а 2 лажно позитивни. Анализата со тестот за сензитивност, покажа дека и кај оваа испитувана група за Brush биопсија методот сензитивноста е 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 93,33%, а негативната предиктивна вредност е 0%. Точноста/веројатноста дека пациентот ќе биде правилно класифициран со Brush биопсија е идентична со Толуидин сино скрининг методот и изнесува 93,33%.

10

Од резултатите кои ги добивме од тестот на сензитивност и специфичност, како и ROC – кривите, произлегува дека конвенционалниот орален преглед - КОП во комбинација со скрининг методите орална Brush биопсија или витално боење со Toluidine сино, е подеднакво ефикасен во дијагностицирањето на пациенти со орални лезии високо суспектни за карцином.

11

Со Brush биопсија методот на дијагностицирање, сите 30 пациенти со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување-локални рецидиви(N3) биле класифицирани како позитивни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група, за Brush биопсија методот, сензитивноста изнесува 100%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот со рецидив ќе биде правилно класифициран со Brush биопсија методот изнесува 100%.

12

Кај испитаниците со оралните лезии за развој на потенцијално малигни заболувања – преканцерози вклучени во групата (N1), со VELscore методот, 14 пациенти се класифицирани како позитивни, од кои 12 се вистина позитивни, 2 лажно позитивни, 12 лица лажно негативни и 4 лица се класифицирани како точно негативни. Анализата покажа дека кај лицата со оралните лезии за развој на потенцијално малигни заболувања – преканцерози, за VELscore методот, сензитивноста изнесува 50%,

специфичноста е 66,67%, позитивната предиктивна вредност е 85,71%, а негативната предиктивна вредност изнесува 25%. Точност, односно, општа веројатност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со VELscope методот изнесува 53,33%.

13

Со VELscope скрининг методот, кај испитаниците со орални лезии високо суспектни за карцином (ОСЦК) од групата (N2), 28 пациенти биле класифицирани како позитивни, од кои 26 биле вистина позитивни, 2 биле лажно позитивни, а 2 лица лажно негативни. Анализата покажа дека кај оваа испитувана група (N2), за VELscope методот, сензитивноста изнесува 92,86%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 92,86% а негативната предиктивна вредност 0%. Точност дека пациентот ќе биде правилно класифициран со VELscope скрининг методот изнесува 86,67%.

14

Кај испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви кои ја сочинуваа групата (N3), со VELscope методот, 29 пациенти се класифицирани како позитивни, а 1 пациент како негативен. Анализата покажа дека кај испитаниците со орални лезии со претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви, за VELscope методот, сензитивноста изнесува 95,83%, специфичноста е 0%, позитивната предиктивна вредност е 100% а негативната предиктивна вредност 0%. Точноста дека пациентот од оваа испитувана група ќе биде правилно класифициран со VELscope методот изнесува 95,83%. Примена на VELscope системот како дополнително средство за детекција, има значајна дијагностичка вредност и кај пациентите со орални лезии високо суспектни за карцином (N2), како и кај пациентите со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување – локални рецидиви (N3).

Со резултатите добиени од нашето истражување докажавме дека двете скрининг методи, витално боење со толуидин сино-ТС и оралната Brush биопсија имаат значајна дијагностичка вредност кај сите три групи испитаници. Треба да напоменеме дека дијагностичката вредност на двете методи е поголема кај пациентите со високо суспектни лезии за ОСЦК и кај испитаниците со орални лезии и претходна историја на малигно орално заболување-локални рецидиви.

VELscope методот во ова истражување даде најслаби резултати во детекција на дисплазија и ОСЦК особено во групата на пациенти со потенцијално малигни заболувања. Тоа се должи секако на тешката интерпетација на резултатите која се базира на индивидуална проценка на истражувачот - лекарот/стоматологот и неговото искуство да ја забележи и оцени промената на светлината и губитокот на флуоресценцијата на оралната мукоза. Исто така Велскопот има повеќе лажно позитивни резултати и може да предизвика стрес кај пациентот и непотребни дополнителни интервенции.

Комбинацијата на методите КОП и оралната Brush биопсија се покажа како најдобра опција во детекција на оралните потенцијално малигни и малигни лезии и ја препорачуваме како најдобра скрининг постапка особено за пациентите со долготрајни премалигни лезии и кај високо ризичните пациенти. Но бидејќи за методата орална Brush биопсија е неопходен патолог истата може да се користи само во здравствени институции каде има патохистолошка лабораторија и од тие причини тоа не е секаде достапна.

Сметаме дека во специјалистичките стоматолошки ординации каде всушност има најголема фреквенција на пациенти, најточна, најлесна и неинвазивна скрининг метода е комбинацијата на КОП и витално боење со Толуидин сино. Не само во нашето истражување каде се покажа супериорна, оваа комбинација на двете методи КОП и ТС е препорачана од многу автори. Сугерираме Толуидин сино методот да биде составен дел на скринингот за орален канцер во секоја специјалистичка стоматолошка ординација.

Можеме да заклучиме дека за следење на потенцијално малигни заболувања во стоматолошките ординации најдобро е да се применува КОП во комбинација со ТС методот, но при дијагностицирање на лезии кои се високо суспектни за карцином подобро е покрај КОП да се примени оралната Brush биопсија како поточен и посигурен скрининг метод. Позитивните резултати и резултатите кои оставаат сомнеж од предложените скрининг методи КОП и Толуидин сино или КОП и оралната Brush биопсија мораат во најбрз временски период со хируршка биопсија да се проследат преку патохистолошка анализа.



ЛИТЕРАТУРА

1. National Cancer Institute. SEER Stat Fact Sheets: Oral Cavity and Pharynx. Bethesda, MD: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/oralcav>, October 2013
2. SEER Cancer Statistics Review, 1973-1998
http://seer.cancer.gov/csr/1973_1998/index.html
3. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer*. 2001;94(2):153–6.
4. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures. 2005.
http://www.cancer.org/docroot/STT/stt_0.asp
5. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2012;62 1:10–29.
6. Olson CM, Burda BU, Beil T, Whitlock EP. Screening for Oral Cancer: A Targeted Evidence Update for the U.S. Preventive Services Task Force. Evidence Synthesis No. 102. AHRQ Publication No. 13-05186-EF-1. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality; 2013.
7. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer*. 1953;6(5):963–8.
8. Day GL, Blot WJ. Second primary tumors in patients with oral cancer 1992;70(1):14–9.
9. Lippman SM, Hong WK. Second malignant tumors in head and neck squamous cell carcinoma: the overshadowing threat for patients with early-stage disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1989;17(3):691–4.
10. Napier SS, Speight PM. Natural history of potentially malignant oral lesions and conditions: an overview of the literature. *J Oral Pathol Med*. 2008;7 1:1–10.
11. Van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncol*. 2009;45 4/5:317–323.

12. Fischer DJ, Epstein JB, Morton TH, Schwartz SM. Interobserver reliability in the histopathologic diagnosis of oral pre-malignant and malignant lesions. *J Oral Pathol Med* 2004;33(2):65-70.
13. Llewellyn CD, Johnson NW, Warnakulasuriya KA. Risk factors for squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people—a comprehensive literature review. *Oral Oncol*. 2001;37 5:401–418.
14. Sankaranarayanan R, Ramadas K, Thomas G, Muwonge R, Thara S, Mathew B, Rajan B. Trivandrum Oral Cancer Screening Study Group. Effect of screening on oral cancer mortality in Kerala, India: a cluster-randomised controlled trial. *Lancet*. 2005;365(9475):1927–33. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66658-5
15. Kujan O, Glenny AM, Oliver RJ, Thakker N, Sloan P. Screening programmes for the early detection and prevention of oral cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;3:CD004150
16. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005, National Cancer Institute. 2008. http://seer.cancer.gov/csr/1975_2005
17. <http://www.ada.org/2607.aspx>
18. Gross G, Gundlach K, Reichart PA. Virus infections and tumors of the oral mucosae. Symposium of the “Arbeitskreis Oralpathologie und Oralmedizin” and the “Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Infektiologie der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft,” Rostock, July 6–7, 2001. *Eur J Med Res*. 2001;6(10):440–58
19. Regezi JA, Dekker NP, Ramos DM, Li X, Macabeo-Ong M, Jordan RC. Proliferation and invasion factors in HIV-associated dysplastic and nondysplastic oral warts and in oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical and RT-PCR evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(6):724–31
20. Piattelli A, Rubini C, Fioroni M, Iezzi T. Warty carcinoma of the oral mucosa in an HIV+ patient. *Oral Oncol*. 2001;37(8):665–7
21. Anil S, Beena VT, Nair RG. Squamous cell carcinoma of the gingiva in an HIV-positive patient: a case report. *Dent Update*. 1996;23(10):424–5
22. Flaitz CM, Hicks MJ. Molecular piracy: the viral link to carcinogenesis. *Oral Oncol*. 1998;34(6):448–53

23. Ries LAG, Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L, Edwards BK, editors. SEER cancer statistics review, 1973–1996. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 1999.
24. Hay JL, Ostroff JS, Cruz GD, LeGeros RZ, Kenigsberg H, Franklin DM. Oral cancer risk perception among participants in an oral cancer screening program. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11(2):155–8
25. Silverman S, Jr, Gorsky M, Lozada F. Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. *Cancer.* 1984;53(3):563–8
26. Schepman KP, van der Meij EH, Smeele LE, van der Waal I. Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from The Netherlands. *Oral Oncol.* 1998;34(4):270–5. [PubMed]
27. Zhang L, Cheung KJ, Jr, Lam WL, Cheng X, Poh C, Priddy R, et al. Increased genetic damage in oral leukoplakia from high risk sites: potential impact on staging and clinical management. *Cancer.* 2001;91(11):2148–55
28. Shiboski CH, Shiboski SC, Silverman S., Jr Trends in oral cancer rates in the United States, 1973–1996. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000;28(4):249–56
29. Rosin MP, Cheng X, Poh C, Lam WL, Huang Y, Lovas J, et al. Use of allelic loss to predict malignant risk for low-grade oral epithelial dysplasia. *Clin Cancer Res.* 2000;6(2):357–62
30. Jullien JA, Downer MC, Speight PM, Zakrzewska JM. Evaluation of health care workers' accuracy in recognizing oral cancer and pre-cancer. *Int Dent J.* 1996;46(4):334–9
31. Zakrzewska JM, Martin IC. Oral cancer screening. *Br Dent J.* 2000;189(3):124–5
32. Nagao T, Warnakulasuriya S, Ikeda N, Fukano H, Fujiwara K, Miyazaki H. Oral cancer screening as an integral part of general health screening in Tokoname City, Japan. *J Med Screen.* 2000;7(4):203–8
33. Warnakulasuriya S, Pindborg JJ. Reliability of oral precancer screening by primary health care workers in Sri Lanka. *Community Dent Health.* 1990;7(1):73–9
34. Jullien JA, Zakrzewska JM, Downer MC, Speight PM. Attendance and compliance at an oral cancer screening programme in general medical practice. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1995;31B(3):202–6

35. Nagao T, Ikeda N, Fukano H, Miyazaki H, Yano M, Warnakulasuriya S. Outcome following a population screening programme for oral cancer and precancer in Japan. *Oral Oncol.* 2000;36(4):340–6
36. Downer MC, Moles DR, Palmer S, Speight PM. A systematic review of test performance in screening for oral cancer and precancer. *Oral Oncol.* 2004;40(3):264–73
37. US Preventive Services Task Force. Screening for oral cancer. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality; 2004. [Accessed 2008 Apr 18]. Available from: www.ahrq.gov/clinic/uspstf/uspsoal.htm
38. Canadian Dental Association. Oral cancer. Ottawa, ON: Canadian Dental Association; 2005. [Accessed 2008 May 6]. Available from: www.cdaadc.ca/en/oral_health/complications/diseases/oral_cancer.asp
39. American Dental Association. Oral cancer. Chicago, IL: American Dental Association; 2007. [Accessed 2008 May 6]. Available from: www.ada.org/public/topics/cancer_oral.asp
40. Hawkins RJ, Wang EE, Leake JL. Preventive health care, 1999 update: prevention of oral cancer mortality. The Canadian Task Force on Preventive Health Care. *J Can Dent Assoc.* 1999;65(11):617
41. Patton LL. The effectiveness of community-based visual screening and utility of adjunctive diagnostic aids in the early detection of oral cancer. *Oral Oncol.* 2003;39(7):708–23
42. Mathew B, Sankaranarayanan R, Wesley R, Nair MK. Evaluation of mouth self-examination in the control of oral cancer. *Br J Cancer.* 1995;71(2):397–9
43. Driemel O, Kunkel M, Hullmann M, et al. Diagnosis of oral squamous cell carcinoma and its precursor lesions (in English and German). *J Dtsch Dermatol Ges* 2007;5(12):1095-1100.
44. Scott SE, Grunfeld EA, McGurk M. The idiosyncratic relationship between diagnostic delay and stage of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2005;41(4):396–403
45. Evans SJ, Langdon JD, Rapidis AD, Johnson NW. Prognostic significance of STNMP and velocity of tumor growth in oral cancer. *Cancer.* 1982;49(4):773–776
46. Mashberg A, Samit AM. Early detection, diagnosis, and management of oral and oropharyngeal cancer. *CA Cancer J Clin.* 1989;39(2):67–88
47. Spiro RH. Squamous cancer of the tongue. *CA Cancer J Clin.* 1985;35(4):252–256

48. Dolan RW, Vaughan CW, Fuleihan N. Symptoms in early head and neck cancer: an inadequate indicator. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998;119(5):463–467. [PubMed]
49. Vernham GA, Crowther JA. Head and neck carcinoma – stage at presentation. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1994;19(2):120–124
50. Gonzalez-Garcia R, Naval-Gias L, Roman-Romero L, Sastre- Perez J, Rodriguez-Campo FJ. Local recurrences and second primary tumors from squamous cell carcinoma of the oralcavity: a retrospective analytic study of 500 patients. *Head Neck.* 2009;31:1168-1180.
51. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, Stinchcomb DG, Howlader N, Horner MJ, Mariotto A, Miller BA, Feuer EJ, Altekruse SF, Lewis DR, Clegg L, Eisner MP, Reichman M, Edwards BK (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2005/, based on November 2007 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2008.
52. Horowitz AM. Perform a death-defying act: the 90-second oral cancer examination. *J Am Dent Assoc.* 2001;32(supplement):36s–40s
53. Horowitz AM, Drury TF, et al. Oral pharyngeal cancer prevention and early detection. Dentists' opinions and practices. *J Am Dent Assoc.* 2000 April;131(4):453–62
54. Alfano MC, Horowitz AM. Professional and community efforts to prevent morbidity and mortality from oral cancer. *J Am Dent Assoc.* 2001 November;132(Suppl):24S–29S
55. Wilson JMGJY. Principles and practice of mass screening for disease. *Public Health Pap.* 1968;(34)
56. Whited JD, Grichnik JM. The rational clinical examination. Does this patient have a mole or a melanoma? *Jama.* 1998;279(9):696–701
57. Rampen FH, Casparie-van Velsen JI, van Huystee BE, Kiemeney LA, Schouten LJ. False-negative findings in skin cancer and melanoma screening. *J Am Acad Dermatol.* 1995;33(1):59–63
58. Shugars DC, Patton LL. Detecting, diagnosing, and preventing oral cancer. *Nurse Pract.* 1997;22(6):105, 109–10, 113–5
59. Silverman S., Jr Early diagnosis of oral cancer. *Cancer.* 1988;62(8 Suppl):1796–9
60. Sandler HC. Cytological screening for early mouth cancer. *Cancer.* 1962;15:1119–24

61. Warnakulasuriya KA, Nanayakkara BG. Reproducibility of an oral cancer and precancer detection program using a primary health care model in Sri Lanka. *Cancer Detect Prev.* 1991;15(5):3314
62. Mathew B, Sankaranarayanan R, Sunilkumar KB, Kuruvila B, Pisani P, Nair MK. Reproducibility and validity of oral visual inspection by trained health workers in the detection of oral precancer and cancer. *Br J Cancer.* 1997;76(3):390–4
63. Mehta FS, Gupta PC, Bhonsle RB, Murti PR, Daftary DK, Pindborg JJ. Detection of oral cancer using basic health workers in an area of high oral cancer incidence in India. *Cancer Detect Prev.* 1986;9(3–4):219–25
64. Ikeda N, Downer MC, Ishii T, Fukano H, Nagao T, Inoue K. Annual screening for oral cancer and precancer by invitation to 60-year-old residents of a city in Japan. *Community Dent Health.* 1995;12(3):133–7
65. Kujan O, Glenny AM, Duxbury AJ, Thakker N, Sloan P. Screening programmes for the early detection and prevention of oral cancer. *Cochrane Database System Rev.* 2003;4:CD004150
66. Mignogna MD, Fedele S. Oral cancer screening: 5 minutes to save a life. *Lancet.* 2005;365(9475):1905–6
67. Downer MC, Jullien JA, Speight PM. An interim determination of health gain from oral cancer and precancer screening: 3 Preselecting high risk individuals. *Community Dent Health.* 1998;15(2):72–6
68. Speight PM, Palmer S, Moles DR, Downer MC, Smith DH, Henriksson M, et al. The cost-effectiveness of screening for oral cancer in primary care. *Health Technol Assess.* 2006;10(14):1–144. iii–iv
69. Thomson PJ. Field change and oral cancer: new evidence for widespread carcinogenesis? *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31(3):262–6
70. Lingen MW, Kalmar JR, Karrison T, Speight PM. Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. *Oral Oncol.* 2008;44:10–22
71. Mignogna MD, Fedele S, and Lo Russo L, “Dysplasia/neoplasia surveillance in oral lichen planus patients: a description of clinical criteria adopted at a single centre and their impact on prognosis,” *Oral Oncology*, vol. 42, no. 8, pp. 819–824, 2006

72. Epstein JB, Guneri P, Boyacioglu H and Abt E, "The limitations of the clinical oral examination in detecting dysplastic oral lesions and oral squamous cell carcinoma," The Journal of the American Dental Association, 2012; vol. 143, pp. 1332–1342
73. Nair D, Pruthy R, Pawar U, et al. Oral cancer: premalignant conditions and screening — an update. J Can Res Therap. 2012;8 Suppl 1:s57–s66
74. Shashidara R, Sreeshyla HS, Sudheendra US. Chemiluminescence: A diagnostic adjunct in oral precancer and cancer: A review. J Cancer Res Ther. 2014 Jul-Sep. 10(3):487-91
75. Mashberg A. Final evaluation of tolonium chloride rinse for screening of high-risk patients with asymptomatic squamous carcinoma. J Am Dent Assoc. 1983;106(3):319–23. [PubMed]
76. Mashberg A. Toluidine blue. J Can Dent Assoc. 1995;61(11):922–944
77. Gupta A, Singh M, Ibrahim R, Mehrotra R. Utility of toluidine blue and oral brush biopsy in oral precancerous lesions and squamous cell carcinoma. Acta Cytol. 2007; 51:788–94. doi: 10.1159/000325843
78. Martin IC, Kerawala CJ, Reed M. The application of toluidine blue as a diagnostic adjunct. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998;85(4):444–6. doi: 10.1016/S1079-2104(98)90071-3
79. Epstein JB, Güneri P. The adjunctive role of toluidine blue in detection of oral premalignant and malignant lesions. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2009;17(2):79–87. doi: 10.1097/MOO.0b013e32832771da
80. Epstein JB, Feldman R, Dolor RJ, Porter SR. The utility of tolonium chloride rinse in the diagnosis of recurrent or second primary cancers in patients with prior upper aerodigestive tract cancer. Head Neck. 2003;25(11):911–21
81. Gray M, Gold L, Burls A, Elley K. The clinical effectiveness of toluidine blue dye as an adjunct to oral cancer screening in general dental practice. A West Midlands Development and Evaluation Service Report; 2000. <http://www.pcpoh.bham.ac.uk/publichealth/wmhtac/pdf/toluidine_blue.pdf>.
82. Barrellier P, Babin E, Louis MY, Meunier-Guttin A. The use of toluidine blue in the diagnosis of neoplastic lesions of the oral cavity. Rev Stomatol Chir Maxillofac 1993;94(1):51–4

83. Onofre MA, Sposto MR, Navarro CM. Reliability of toluidine blue application in the detection of oral epithelial dysplasia and in situ and invasive squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;91(5):535–40.
84. Martin IC, Kerawala CJ, Reed M. The application of toluidine blue as a diagnostic adjunct in the detection of epithelial dysplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(4):444–6.
85. Zhang L, Williams M, Poh CF, Laronde D, Epstein JB, Durham S, et al. Toluidine blue staining identifies high-risk primary oral premalignant lesions with poor outcome. *Cancer Res* 2005;65(17):8017–21.
86. 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
87. Su WW, Yen AM, Chiu SY, et al. A community-based RCT for oral cancer screening with toluidine blue. *J Dent Res.* 2010;89 9:933–937
88. Huber MA, Bsoul SA, Terezhalmay GT. Acetic acid wash and chemiluminescent illumination as an adjunct to conventional oral soft tissue examination for the detection of dysplasia: a pilot study. *Quintessence Int.* 2004;35 5:378–384
89. Epstein JB, Silverman S Jr, Epstein JD, et al. Analysis of oral lesion biopsies identified and evaluated by visual examination, chemiluminescence and toluidine blue. *Oral Oncol.* 2008 Jun. 44(6):538-44
90. Mashberg A. Reevaluation of toluidine blue application as a diagnostic adjunct in the detection of asymptomatic oral squamous carcinoma: a continuing prospective study of oral cancer III. *Cancer* 1980; 46(4):758–763
91. Epstein JB, Oakley C, Millner A, Emerton S, van der Meij E, Le N. The utility of toluidine blue application as a diagnostic aid in patients previously treated for upper oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997;83(5):537–547
92. Mehrotra R, Singh M, Thomas S, Nair P, Pandya S, Nigam NS, Shukla P. A cross-sectional study evaluating chemiluminescence and autofluorescence in the detection of clinically innocuous precancerous and cancerous oral lesions. *J Am Dent Assoc.* 2010;141:151–6

93. Zunt SL. Transepithelial Brush Biopsy: an adjunctive diagnostic procedure. J Indiana Dent Assoc. 2001 Summer. 80(2):6-8
94. Mehrotra R, Gupta A, Singh M, et al. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. Mol Cancer. 2006 Mar 23. 5:11
95. Frist S. The oral brush biopsy: separating fact from fiction. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003;96(6):654–5
96. Eisen D. Brush biopsy 'saves lives' J Am Dent Assoc. 2002;133(6):688, 690, 692. [PubMed]
97. Eisen D, Frist S. The relevance of the high positive predictive value of the oral brush biopsy. Oral Oncol. 2005;41(7):753–5
98. UK National Screening Committee. Criteria for appraising the viability, effectiveness and appropriateness of a Screening programme.
http://www.nsc.nhs.uk/uk_nsc/uk_nsc_ind.htm
99. Jaeschke R, Guyatt G, Sackett DL. Users' guides to the medical literature. III. How to use an article about a diagnostic test. A Are the results of the study valid? Evidence-Based Medicine Working Group. Jama. 1994;271(5):389–91
100. Sciubba JJ. Improving detection of precancerous and cancerous oral lesions. Computer-assisted analysis of the oral brush biopsy. U.S. Collaborative OralCDx Study Group. J Am Dent Assoc. 1999;130(10):1445–57
101. Poate TW, Buchanan JA, Hodgson TA, Speight PM, Barrett AW, Moles DR, et al. An audit of the efficacy of the oral brush biopsy technique in a specialist Oral Medicine unit. Oral Oncol. 2004;40(8):829–34
102. Scheifele C, Schmidt-Westhausen AM, Dietrich T, Reichart PA. The sensitivity and specificity of the OralCDx technique: evaluation of 103 cases. Oral Oncol. 2004;40(8):824
103. Potter TJ, Summerlin DJ, Campbell JH. Oral malignancies associated with negative transepithelial brush biopsy. J Oral Maxillofac Surg. 2003;61:674–7
104. Rick GM, Slater L. Oral brush biopsy: the problem of false positives. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003;96:252
105. Fedele S. Diagnostic aids in the screening of oral cancer. Head Neck Oncol. 2009;1(1):5

106. Mehrotra R, Singh MK, Pandya S, Singh M. The use of an oral brush biopsy without computer-assisted analysis in the evaluation of oral lesions: a study of 94 patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Aug. 106(2):246-53
107. Mehrotra R, Mishra S, Singh M, Singh M. The efficacy of oral brush biopsy with computer-assisted analysis in identifying precancerous and cancerous lesions. *Head Neck Oncol.* 2011 Aug 24. 3:39
108. Kämmerer PW, Koch FP, Santoro M, Babaryka G, Biesterfeld S, Brieger J, et al. Prospective, blinded comparison of cytology and DNA-image cytometry of brush biopsies for early detection of oral malignancy. *Oral Oncol.* 2013;49(5):420-6
109. Maurer K, Eschrich K, Schellenberger W, Bertolini J, Rupf S, Remmerbach TW. Oral brush biopsy analysis by MALDI-ToF Mass Spectrometry for early cancer diagnosis. *Oral Oncol.* 2013;49(2):152-6
110. Svirsky JA, Burns J, Carpenter WM, et al. Comparison of computer-assisted brush biopsy results with follow up scalpel biopsy and histology. *Gen Dent.* 2002;50(6):500–503
111. Awan KH, Morgan PR, Warnakulasuriya S. Evaluation of an autofluorescence based imaging system (VELscope™) in the detection of oral potentially malignant disorders and benign keratoses. *Oral Oncol.* 2011;47(4):274-277
112. Kerr AR, Sirois DA, Epstein JB. Clinical evaluation of chemiluminescent lighting: an adjunct for oral mucosal examinations. *J Clin Dent.* 2006;17(3):59–63
113. Rajmohan M, Rao UK, Joshua E, Rajasekaran ST, & Kannan R. (2012) Assessment of oral mucosa in normal, precancer and cancer using chemiluminescent illumination, toluidine blue supravital staining and oral exfoliative cytology. *J. Oral Maxillofac. Pathol.*, 2012; 16:325-329
114. Epstein JB, Gorsky M, Lonky S, Silverman S, Jr, Epstein JD, Bride M. The efficacy of oral lumenoscopy™ (ViziLite®) in visualizing oral mucosal lesions. *Spec Care Dentist.* 2006;26(4):171–174
115. Ram S, Siar CH. Chemiluminescence as a diagnostic aid in the detection of oral cancer and potentially malignant epithelial lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34(5):521–527

116. Farah CS, McCullough MJ. A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (ViziLite™) in the visualisation of oral mucosal white lesions. *Oral Oncol.* 2007;43:820–824
117. Oh ES, Laskin DM. Efficacy of the ViziLite system in the identification of oral lesions. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(3):424–426
118. Epstein JB, Sciubba J, Silverman S Jr, et al. Utility of toluidine blue in oral premalignant lesions and squamous cell carcinoma: continuing research and implications for clinical practice. *Head Neck.* 2007 Oct. 29(10):948-58
119. Rethman MP, Carpenter W, Cohen EE, Epstein J, Evans CA, Flaitz CM, et al. Evidence-based clinical recommendations regarding screening for oral squamous cell carcinomas. *J Am Dent Assoc.* 2010;141:509–520
120. Farah CS, McCullough MJ. A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (ViziLite™) in the visualisation of oral mucosal white lesions. *Oral Oncol.* 2006
121. Epstein JB, Silverman S, Jr, Epstein JD, Lonky SA, Bride MA. Analysis of oral lesion biopsies identified and evaluated by visual examination, chemiluminescence and toluidine blue. *Oral Oncol.* 2007 Nov 8; Epub ahead of print
122. Kennedy JC, Pottier RH. Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B.* 1992;14(4):275–292
123. Ebihara A, Liaw LH, Krasieva TB. Detection and diagnosis of oral cancer by light-induced fluorescence. *Lasers Surg Med.* 2003;32(1):17–24
124. Schantz SP, Kolli V, Savage HE, et al. In vivo native cellular fluorescence and histological characteristics of head and neck cancer. *Clin Cancer Res.* 1998;4(5):1177–1182
125. Sweeny L, Dean NR, Magnuson JS, et al. Assessment of tissue autofluorescence and reflectance for oral cavity cancer screening. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012;145(6):956–960
126. Poh CF, Zhang L, Anderson DW, Durham JS, Williams PM, Priddy RW, et al. Fluorescence visualization detection of field alterations in tumor margins of oral cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2006;12(22):6716–22

127. Lane PM, Gilhuly T, Whitehead P, Zeng H, Poh CF, Ng S, et al. Simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *J Biomed Opt.* 2006;11(2):024006
128. Poh CF, Williams PM, Zhang L, Laronde DM, Lane P, MacAulay C, Rosin MP. Direct fluorescence visualization of clinically occult high-risk oral premalignant disease using a simple hand-held device. *Head & Neck.* 2007;29(1):71–76
129. Camiles F, McIntosh L, Georgiou A, et al. Efficacy of tissue autofluorescence imaging (Velscope) in the visualization of oral mucosal lesions. *Head Neck.* 2012;34(6):856–862
130. Sawan D, Mashlah A. Evaluation of premalignant and malignant lesions by fluorescent light (VELscope). *J Int Soc Prev Community Dent.* 2015;5(3):248-54 doi: 10.4103/2231-0762.159967.
131. Trullenque Eriksson A, Muñoz Corcuera M, Campo Trapero J, Cano Sánchez J, Bascones Martínez A. Analysis of new diagnostic methods in suspicious lesions of the oral mucosa. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2009;14:2106
132. Matsumoto K. Detection of potentially malignant and malignant lesions of oral cavity using autofluorescence visualization device. *Kokubyo Gakkai Zasshi.* 2011;78:7380.
133. Farah CS, McIntosh L, Georgiou A, McCullough MJ. Efficacy of tissue autofluorescence imaging (VELScope) in the visualization of oral mucosal lesions. *Head Neck.* 2012;34:856-862. [PubMed]
134. Ardore M, Tempia Valenta G, Pentenero M, Gandolfo S. Using the VELscope test in the evaluation of suspicious lesions of the oral mucosa oncologically. *Dent Cadmos.* 2012;80:53842-5456
135. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, Bernstein L, Schoenberg JB, Stemhagen A, Fraumeni JF Jr. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.* 1988;48(11):3282–7. Jun 1. PubMed PMID: 3365707
136. Silverman S. Oral cancer. *Semin Dermatol.* 1994;13:132–137
137. Seoane Leston J, Diz Dios P. Diagnostic clinical aids in oral cancer *Oral Oncol.* 2010;418-422
138. Rana M, Zapf A, Kuehle M, Gellrich NC, Eckardt AM. Clinical evaluation of an autofluorescence diagnostic device for oral cancer detection: a prospective randomized

- diagnostic study. *Eur J Cancer Prev.* 2012;21(5):460–466 doi:10.1097/CEJ.0b013e32834fdb6d.doi:10.1097/CEJ.0b013e32834fdb6d. Sep. PubMed PMID: 22217551
139. Paulis M. The influence of patient education by the dental hygienist: acceptance of the fluorescence oral cancer exam. *J Dent Hygiene.* 2009;83(3):134–140
 140. Kalmar JR. Advances in the detection and diagnosis of oral precancerous and cancerous lesions. *Oral Maxillofac Surg Clin N Am.* 2006;18:465–482
 141. Kelloff GJ, Sullivan DC, Baker H, et al. Workshop on imaging science development for cancer prevention and preemption. *Cancer Biomark.* 2007;3:1–33
 142. Lingen MW. Oral cancer screening aids: where is the science? *Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Rad Oral Endo.* 2007;103(2):153–154
 143. Rhodus NL. Oral cancer and precancer: improving outcomes. *Compend Contin Educ Dent.* 2009;30(8):486–488. 490–494, 496–498
 144. Balevi B. Evidence-based decision-making: should the general dentist adopt the use of the VELscope for routine screening for oral cancer? *J Can Dent Assoc.* 2007;73(7):603–606
 145. Scheer M., Neugebauer J., Derman A., Fuss J., Drebber U., and Zoeller J.E., “Autofluorescence imaging of potentially malignant mucosa lesions,” *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 2011;111(5):568–577
 146. Marzouki HZ, Tuong VVT, Ywakim R, Chauvin P, Hanley J, Kost KM. Use of fluorescent light in detecting malignant and premalignant lesions in the oral cavity: a prospective, single-blind study. *Journal of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 2012;41:164–168
 147. American Academy of Family Physicians. Oral Cancer. Leawood, KS: American Academy of Family Physicians; 2004.
<http://www.aafp.org/patient-care/clinical-recommendations/all/oral-cancer>
 148. U.S. Preventive Services Task Force. Final Recommendation Statement: Oral Cancer: Screening, 2013. Accessed February 24, 2016
 149. Warnakulasuriya KA, Harris CK, Scarrott DM, et al. An alarming lack of public awareness towards oral cancer. *Br Dent J* 1999;187: 319–322

150. Horowitz AM, Nourjah P, Gift HCUS. Adult knowledge of risk factors and signs of oral cancers: 1990. J Am Dent Assoc 1995;126:39–45
151. Horowitz AM, Goodman HS, Yellowitz JA, Nourjah PA. The need for health promotion in oral cancer prevention and early detection. J Public Health Dent 1996;56:319–330
152. Ahluwalia KP, Yellowitz JA, Goodman HS, Horowitz AM. An assessment of oral cancer prevention curricula in U.S. medical schools. J Cancer Educ 1998;13:90–95
153. Rankin KV, Burznski NJ, Silverman S Jr, Scheetz JP. Cancer curricula in U.S. dental schools. J Cancer Educ 1999;14:8–12
154. Canto MT, Horowitz AM, Child WL. Views of oral cancer prevention and early detection: Maryland physicians. Oral Oncol 2002;38:373–377
155. Canto MT, Horowitz AM, Drury TF, Goodman HS. Maryland family physicians' knowledge, opinions and practices about oral cancer. Oral Oncol 2002;38:416–424
156. Clovis JB, Horowitz AM, Poel DH. Oral and pharyngeal cancer: knowledge and opinions of dentists in British Columbia and Nova Scotia. J Can Dent Assoc 2002;68:415–420
157. Rankin KV, Jones DL, McDaniel RK. Oral cancer education in dental schools: survey of Texas dental students. J Cancer Educ 1996;11:80–83
158. Sankaranarayanan R, Mathew B, Jacob BJ, et al. Early findings from a community-based, cluster-randomized, controlled oral cancer screening trial in Kerala, India. The Trivandrum Oral Cancer Screening Study Group. Cancer 2000;88:664–673
159. Clayman GL, Chamberlain RM, Lee JJ, Lippman SM, Hong WK. Screening at a health fair to identify subjects for an oral leukoplakia chemoprevention trial. J Cancer Educ 1995;10:88–90
160. Warnakulasuriya KA, Johnson NW. Strengths and weaknesses of screening programmes for oral malignancies and potentially malignant lesions. Eur J Cancer Prev 1996;5:93–98
161. Kujan O, Glenny AM, Duxbury AJ, Thakker N, Sloan P. Screening programmes for the early detection and prevention of oral cancer. Cochrane Database Syst Rev 2003; 4:CD004150
162. Tradati N, Grigolat R, Calabrese L, et al. Oral leukoplakias: to treat or not? Oral Oncol 1997;33:317–321

163. Van der Waal I, Schepman KP, van der Meij EH. A modified classification and staging system for oral leukoplakia. *Oral Oncol* 2000;36:264–266
164. Mehanna, H. M., Rattay, T., Smith, J. & McConkey, C. C. Treatment and follow-up of oral dysplasia-a systematic review and metaanalysis. *Head Neck* 31, 1600–9 (2009)
165. Lumerman H, Freedman P, Kerpel S (1995). Oral epithelial dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 79:321–329
166. Burzynski NJ, Firriolo FJ, Butters JM, Sorrell CL (1997). Evaluation of oral cancer screening. *J Cancer Educ* 12:95–99
167. Howaldt HP, Kainz M, Euler B, Vorast H (1999). Proposal for modification of the TNM staging classification for cancer of the oral cavity. *DOSAK J Craniomaxillofac Surg* 27:275–288
168. Palmer O, Grannum R (2011). Oral cancer detection. *Dent Clin North Am* 55:537–548
169. Mashberg A (2000). Diagnosis of early oral and oropharyngeal squamous carcinoma: obstacles and their amelioration. *Oral Oncol* 36:253–255
170. Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L, Ruoppo E, Lo Muzio L (2001). Oral and pharyngeal cancer: lack of prevention and early detection by health care providers. *Eur J Cancer Prev* 10:381–383
171. Mashberg A, Samit A (1995). Early diagnosis of asymptomatic oral and oropharyngeal squamous cancers. *CA Cancer J Clin* 45:328–351
172. Shugars DC, Patton LL. Detecting, diagnosing, and preventing oral cancer. *Nurse Pract* 1997;22(6):105, 109–110, 113–115 passim.
173. Mignogna MD, Fedele S. Oral cancer screening: 5 Minutes to save a life. *Lancet* 2005; 365(9475): 1905-6
174. Patton LL. The effectiveness of community-based visual screening and utility of adjunctive diagnostic aids in the early detection of oral cancer. *Oral Oncology* 2003; 39(7): 708-23
175. Neville BW, Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *Ca-A Cancer Journal for Clinicians* 2002; 52(4): 195-215

176. Das BR, Nagpal JK. Understanding the biology of oral cancer. *Medical Science Monitor* 2002; 8(11): RA258-RA67
177. Brocklehurst, P. et al. Screening programmes for the early detection and prevention of oral cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 11, CD004150 (2013)
178. Poh CF, MacAulay CE, Laronde DM, Williams PM, Zhang L, Rosin MP. Squamous cell carcinoma and precursor lesions: diagnosis and screening in a technical era. *Periodontol* 2000. 2011;57(1):73–88. doi:10.1111/j.1600-0757.2011.00386.x
179. Lee JJ, Hung HC, Cheng SJ, et al. Factors associated with underdiagnosis from incisional biopsy of oral leukoplakic lesions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 2007; 104(2): 217-25
180. Natarajan, E. & Eisenberg, E. Contemporary concepts in the diagnosis of oral cancer and precancer. *Dent Clin North Am* 55, 63–88(2011)
181. Yang EC, Tan MT, Schwarz RA, Richards-Kortum RR, Gillenwater AM, Vigneswaran N. Noninvasive diagnostic adjuncts for the evaluation of potentially premalignant oral epithelial lesions: current limitations and future directions. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* 2018; 125, 670–681. doi: 10.1016/j.oooo.2018.02.020
182. Awan KH, Morgan PR, Warnakulasuriya S. Evaluation of an autofluorescence based imaging system (VELscope) in the detection of oral potentially malignant disorders and benign keratoses. *Oral Oncol.* 2011;47(4):274–277. doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.02.001
183. Müller S. Oral epithelial dysplasia, atypical verrucous lesions and oral potentially malignant disorders: focus on histopathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):591-602
184. Seoane J, Varela-Centelles PI, Ramirez JR, Cameselle-Teijeiro J, Romero MA. Artefacts in oral incisional biopsies in general dental practice: a pathology audit. *Oral Dis* 2004; 10(2): 113-7
185. Seoane J, Varela-Centelles P, Ramirez JR, Romero MA, De La Cruz A. Artefacts produced by suture traction during incisional biopsy of oral lesions. *Clinical Otolaryngology and Allied Sciences* 2002; 27(6): 549-53

186. Abbey LM, Kaugars GE, Gunsolley JC, et al. Intraexaminer and interexaminer reliability in the diagnosis of oral epithelial dysplasia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and 1995*; 80(2): 188-91
187. Fischer DJ, Epstein JB, Morton Jr TH, Schwartz SM. Reliability of histologic diagnosis of clinically normal intraoral tissue adjacent to clinically suspicious lesions in former upper aerodigestive tract cancer patients. *Oral Oncology* 2005; 41(5): 489-96
188. Hanken H, Kraatz J, Smeets R, Heiland M, Assaf At, Blessmann M, et al. The detection of oral pre malignant lesions with an autofluorescence based imaging system (VELscope TM) – A single blinded clinical evaluation. *Head Face Med.* 2013;9:23
189. Roblyer D, Kurachi C, Stepanek V, et al. Objective detection and delineation of oral neoplasia using autofluorescence imaging. *Cancer Prev Res (Phila).* 2009;2(5):423-431
190. Jullien JA, Downer MC, Zakrzewska JM, Speight PM. Evaluation of a screening test for the early detection of oral cancer and precancer. *Community Dent Health.* 1995;12(1):3–7
191. Downer MC, Evans AW, Hughes Hallet CM, Jullien JA, Speight PM, Zakrzewska JM. Evaluation of screening for oral cancer and precancer in a company headquarters. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1995;23(2):84–8
192. McNamara KK, Martin BD, Evans EW, Kalmar JR. The role of direct visual fluorescent examination (VELscope) in routine screening for potentially malignant oral mucosal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;114:636-43.
193. U.S. Preventive Services Task Force. Screening for oral cancer: recommendation statement. February 2004.
<http://www.uspreventiveservicestaskforce.org/3rduspstf/oralcan/oralcanrs.htm>
 Accessed February 10, 2011.
194. Walsh T, Liu JLY, Brocklehurst P, Glenny AM, Lingen M, Kerr AR, Ogden G, Warnakulasuriya S, Scully C. Clinical assessment to screen for the detection of oral cavity cancer and potentially malignant disorders in apparently healthy adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013, Issue 11. Art. No.: CD010173, DOI: 10.1002/14651858.CD010173.pub2.

195. Chang SW, Kareem SA, Kallarakkal TG, Merican AF, Abraham MT, Zain RB. Feature Selection Methods for Optimizing Clinicopathologic Input Variables in Oral Cancer Prognosis', *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2011, 12(10), pp. 2659-2664
196. Chang IH, Jiang RS, Wong YK, Wu SH, Chen FJ, Liu SA. Visual screening of oral cavity cancer in a male population: experience from a medical center. *Journal of the Chinese Medical Association*, 2011; 74(12):561–566, DOI:10.1016/j.jcma.2011.09.014, PMID: 22196472
197. Wang CP, Liao LJ, Chiang CJ, Hsu WL, Kang CJ, Wang CC, Chen PR, Chen TC, Huang WW, Chien CY. Patients with oral cancer do not undergo surgery as primary treatment: A population-based study in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2020 Jan;119(1 Pt 3):392-398.
198. Maraki D, Yalcinkaya S, Pomjanski N, Megahed M, Boecking A, Becker J. Cytologic and DNA-cytometric examination of oral lesions in lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2006;35(4):227–32. doi: 10.1111/j.1600-0714.2006.00401.x
199. Epstein, J.B., Scully, C. and Spinelli, J. (1992), Toluidine blue and Lugol's iodine application in the assessment of oral malignant disease and lesions at risk of malignancy. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 21: 160-163. doi:10.1111/j.1600-0714.1992.tb00094.x
200. Richart, Ralph M. A clinical staining test for the in vivo delineation of dysplasia and carcinoma in situ. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1963;86(6):703-707
201. Remmerbach TW, Meyer-Ebrecht D, Aach T, Würflinger T, Bell AA, Schneider TE, Nietzke N, Frerich B, Böcking A. Toward a multimodal cell analysis of brush biopsies for the early detection of oral cancer. *Cancer Cytopathol*. 2009;117(3):228–35. doi: 10.1002/cncy.20028
202. Remmerbach TW, Wottawah F, Dietrich J, Lincoln B, Wittekind C, Guck J. Oral cancer diagnosis by mechanical phenotyping. *Cancer Res*. 2009;69(5):1728–32. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4073
203. Hirshberg A, Yarom N, Amariglio N, Yahalom R, Adam I, Stanchesu R, Ben-Dov I, Taicher S, Rechavi G, Trakhtenbrot L. Detection of non-diploid cells in premalignant and malignant oral lesions using combined morphological and FISH analysis - a new method for early detection of suspicious oral lesions. *Cancer Lett*. 2007;253(2):282–90. doi: 10.1016/j.canlet.2007.02.008

204. Bremmer JF, Graveland AP, Brink A, Braakhuis BJ, Kuik DJ, Leemans CR, Bloemena E, van der Waal I, Brakenhoff RH. Screening for oral precancer with noninvasive genetic cytology. *Cancer Prev Res (Phila)* 2009;2(2):128–33. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-08-0128
205. Gandolfo, S., Pentenero, M., Broccoletti, R., Pagano, M., Carrozzo, M. & Scully, C. (2006) Toluidine blue uptake in potentially malignant oral lesions in vivo: clinical and histological assessment. *Oral Oncol.*, 42, 89-95
206. Pallagatti, S., Sheikh, S., Aggarwal, A., Gupta, D., Singh, R., Handa, R., Kaur, S. & Mago, J. (2013) Toluidine blue staining as an adjunctive tool for early diagnosis of dysplastic changes in the oral mucosa. *J. Clin. Exp. Dent.*, 5, e187-e191. doi: 10.4317/jced.51121. PMID: 24455079; PMCID: PMC3892241
207. Guneri, P., Epstein, J.B., Ilhan, B., Kaya, A. & Boyacioglu, H. (2013) Clinical application of a digital method to improve the accuracy of color perception in toluidine blue stained oral mucosal lesions. *Quintessence Int.*, 44, 619-627
208. Awan KH, Yang YH, Morgan PR, Warnakulasuriya S. Utility of toluidine blue as a diagnostic adjunct in the detection of potentially malignant disorders of the oral cavity—a clinical and histological assessment. *Oral Dis.*, 2012;8:728-733
209. Mercadante V, Paderni C, Campisi G. Novel non-invasive adjunctive techniques for early oral cancer diagnosis and oral lesions examination. *Curr. Pharm. Des.* 2012;18:5442-5451
210. Kishorekumar S, Manigandan T, Nithya J, Kavita N, Kiruthika K. Toluidine Blue - A Review with a Case Report. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. March - April 2014 RJPBCS 5(2)
211. Rosenberg D, Cretin S. Use of meta-analysis to evaluate toluidine chloride in oral cancer screening. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989;67:621–627
212. Rahman F, Tippu SR, Khandelwal S, Girish KL, Manjunath BC, Bhargava A. A study to evaluate the efficacy of toluidine blue and cytology in detecting oral cancer and dysplastic lesions. *Quintessence Int.* 2012 Jan;43(1):51-9. PubMed PMID: 22259809
213. Nagaraju, K., Prasad, S. & Ashok, L. (2010) Diagnostic efficiency of toluidine blue with Lugol's iodine in oral premalignant and malignant lesions. *Indian J. Dent. Res.*, 21, 218-223

214. Missmann M, Jank S, Laimer K, Gassner R. A reason for the use of toluidine blue staining in the presurgical management of patients with oral squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006 Dec;102(6):741-3 PMID:17138175 DOI:10.1016/j.tripleo.2006.03.012
215. Allegra E, Lombardo N, Puzzo L, Garozzo A. The usefulness of toluidine staining as a diagnostic tool for precancerous and cancerous oropharyngeal and oral cavity lesions. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2009;29(4):187–190
216. Giovannacci I, Vescovi P, Manfredi M, Meleti M. Non-invasive visual tools for diagnosis of oral cancer and dysplasia: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2016;21(3):e305–e315. Published 2016 May 1. doi:10.4317/medoral.20996
217. Shukla A, Singh NN, Adsul S, Kumar S, Shukla D, Sood A. Comparative efficacy of chemiluminescence and toluidine blue in the detection of potentially malignant and malignant disorders of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2018;22(3):442. doi:10.4103/jomfp.JOMFP_261_17
218. Upadhyay J, Rao NN, Upadhyay RB, Agarwal P. Reliability of toluidine blue vital staining in detection of potentially malignant oral lesions – Time to reconsider. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12:1757–60
219. Strome A, Kossatz S, Zanoni DK, Rajadhyaksha M, Patel S, Reiner T. Current Practice and Emerging Molecular Imaging Technologies in Oral Cancer Screening. *Mol Imaging.* 2018;17:1536012118808644. Published 2018 Dec 3. doi:10.1177/1536012118808644
220. Liu D, Zhao X, Zeng X, Dan H, Chen Q. Non-Invasive Techniques for Detection and Diagnosis of Oral Potentially Malignant Disorders. *Tohoku J Exp Med.* 2016 Feb;238(2):165-77. doi: 10.1620/tjem.238.165
221. Jiang WW, Fujii H, Shirai T, et al. Accumulative increase of loss of heterozygosity from leukoplakia to foci of early cancerization in leukoplakia of the oral cavity. *Cancer* 2001; 92:2349–2356
222. Silverman S Jr, Sugerman PB. Oral premalignancies and squamous cell carcinoma. *Clin Dermatol* 2000; 18:563–568

223. Partridge M, Pateromichelakis S, Phillips E, et al. Profiling clonality and progression in multiple premalignant and malignant oral lesions identifies a subgroup of cases with a distinct presentation of squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7:1860–1866
224. Epstein JB, Zhang L, Rosin M. Advances in the diagnosis of oral premalignant and malignant lesions. *J Can Dent Assoc* 2002; 68:17–21
225. Partridge M, Li SR, Pateromichelakis S, et al. Detection of minimal residual cancer to investigate why oral tumors recur despite seemingly adequate treatment. *Clin Cancer Res* 2000; 6:2718–2725
226. Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA, et al. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerisation: evidence and clinical implications. *Cancer Res* 2003; 63:1727–1730
227. Epstein JB, Zhang L, Poh C, et al. Increased allelic loss in toluidine blue positive oral malignant lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95:45–50
228. Guo Z, Yamaguchi K, Sanchez-Cespedes M, Westra WH, Koch WM, Sidransky D. Allelic losses in OraTest-directed biopsies of patients with prior upper aerodigestive tract malignancy. *Clin Cancer Res* 2001;7:1963–196
229. Scully C, Bagan JV, Hopper C, Epstein JB. Oral cancer: Current and future diagnostic techniques. *Am J Dent*. 2008;21:199–209
230. Warnakulasuriya KA, Johnson NW. Sensitivity and specificity of OraScan (R) toluidine blue mouthrinse in the detection of oral cancer and precancer. *J Oral Pathol Med*. 1996;25:97–103
231. Lingen MW. Improving translational research for oral cancer screening aids: putting my "money" where my mouth is. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;104:301–302
232. Macey R, Walsh T, Brocklehurst P, et al. Diagnostic tests for oral cancer and potentially malignant disorders in patients presenting with clinically evident lesions. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;(5):CD010276
233. Moles DR, Downer MC, Speight PM. Meta-analysis of measures of performance reported in oral cancer and precancer screening studies. *British Dental J* 2002; 192(6): 340-4

234. Gauthier P, Audet N, Guertin L, et al. Complete frozen section margins (with measurable 1 or 5 mm thick free margin) for cancer of the tongue: part 2: clinical experience. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2010; 39(1): 20-7
235. Hunter KD, Parkinson EK, Harrison PR. Profiling early head and neck cancer. *Nature Reviews Cancer* 2005; 5(2): 127-35
236. Divani S, Exarhou M, Theodorou LN, Georgantzis D, Skoulakis H. Advantages and difficulties of brush cytology in the identification of early oral cancer. *Archive of Oncology* 2009; 17(1-2): 11-2
237. Sudbø J, Kildal W, Risberg B, Koppang HS, Danielsen HE, Reith A. DNA content as a prognostic marker in patients with oral leukoplakia (Retraction in: *New England Journal of Medicine* (2006) 355: 18 (1927)). *New Eng J Med* 2001; 344(17): 1270-8
238. Bocking A, et al. Role of Brush Biopsy and DNA cytometry for prevention, diagnosis, therapy, and followup care of oral cancer. *J Oncol.* 2011:875959. doi: 10.1155/2011/875959
239. Burgess J, Hohlweg-Majert B, Deppe H, Metzger MC, et al. Sensitivity and specificity of oral brush biopsy. *Cancer Investigation* 2009;27(3):293-297
240. Felefli S, Flaitz CM. The oral brush biopsy: it's as easy as 1,2,3. *Texas dental J* 2000; 117(6):20- 4
241. Queiroz JB, Lima CF, Burim RA, Brandao AAH, Cabral LAG, Almeida JD. Exfoliative cytology of the oral mucosa: Comparison of two collection methods. *General dentistry* 2010; 58(5): e196-e9
242. Sciubba JJ. Oral leukoplakia. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1995. 6(2):147-60
243. Remmerbach TW, Weidenbach H, Hemprich A, Bocking A. Earliest detection of oral cancer using non-invasive brush biopsy including DNA-image-cytometry: report on four cases. *Anal Cell Pathol.* 2003. 25(4):159-66
244. Weigum SE, Floriano PN, Redding SW, Yeh CK, Westbrook SD, McGuff HS, et al. Nano-bio-chip sensor platform for examination of oral exfoliative cytology. *Cancer Prev Res (Phila).* 2010 Apr. 3(4):518-28

245. Christian DC. Computer-assisted analysis of oral brush biopsies at an oral cancer screening program. *J Am Dent Assoc.* 2002 Mar;133(3):357-62
246. Foy JP, Bertolus C, William NW, Saintigny P. Oral Premalignancy: The Roles of Early Detection and Chemoprevention, *Otolaryngologic Clinics of North America*, 2013;46(4):579-597, ISSN:0030-6665, ISBN:9780323186131
247. Ahmed HG, Idris AM, Ibrahim SO. Study of oral epithelial atypia among Sudanese tobacco users by exfoliative cytology. *Anticancer Res* 2003, 23:1943-9
248. Nichols ML, Quinn FB Jr, Schnadig VJ, Zaharopoulos P, Hokanson JA, Des Jardins L, et al. Interobserver variability in the interpretation of brush cytologic studies from head and neck lesions. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991, 117:1350-5
249. Holmstrup P, Vedtofte P, Reibel J, Stoltze K: Oral premalignant lesions: is a biopsy reliable? *J Oral Pathol Med* 2007, 36(5):262-266
250. Koch FP, Kunkel M, Biesterfeld S, Wagner W: Diagnostic efficiency of differentiating small cancerous and precancerous lesions using mucosal brush smears of the oral cavity-a prospective and blinded study. *Clin Oral Investig.* 2011;15(5):763-9. doi: 10.1007/s00784-010-0434-6
251. Kosicki DM, Riva C, Pajarola GF, Burkhardt A, Gratz KW: [OralCDx brush biopsy--a tool for early diagnosis of oral squamous cell carcinoma]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2007, 117(3):222-227
252. Bhoopathi V, Kabani S, Mascarenhas AK: Low positive predictive value of the oral brush biopsy in detecting dysplastic oral lesions. *Cancer* 2009, 115(5):1036-40
253. Allegra SR, Broderick PA, Corvese N. Oral cytology. Seven-year oral cytology screening program in the State of Rhode Island: analysis of 6448 cases. *Acta Cytol.* 1973;17:42-48
254. Tan NC, Herd MK, Brennan PA, Puxeddu R. The role of narrow band imaging in early detection of head and neck cancer. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2012;50(2):132-136
255. Katada C, Nakayama M, Tanabe S, et al. Narrow band imaging for detecting superficial oral squamous cell carcinoma: a report of two cases. *Laryngoscope*, 2007;117(9):1596-1599

256. Tan NC, Mellor T, Brennan PA, Puxeddu R. Use of narrow band imaging guidance in the management of oral erythroplakia. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2011;49(6):488–490
257. Yang SW, Lee YS, Chang LC, Hwang CC, Luo CM, Chen TA. Use of endoscopy with narrow-band imaging system in evaluating oral leukoplakia. *Head and Neck*, 2011
258. Yang SW, Lee YS, Chang LC, Chien HP, Chen TA. Clinical appraisal of endoscopy with narrow-band imaging system in the evaluation and management of homogeneous oral leukoplakia. *Journal of Otorhinolaryngology and its Related Specialties*, 2012;74(2):102–109
259. Piazza C, Cocco D, Del Bon F, et al. Narrow band imaging and high definition television in evaluation of oral and oropharyngeal squamous cell cancer: a prospective study. *Oral Oncology*, 2010;46(4):307–310
260. Chu PY, Tsai TL, Tai SK, Chang SY. Effectiveness of narrow band imaging in patients with oral squamous cell carcinoma after treatment. *Head and Neck*, 2012;34(2):155–161
261. Lin YC, Wang WH, Lee KF, Tsai WC, Weng HH. Value of narrow band imaging endoscopy in early mucosal head and neck cancer. *Head and Neck*, 2012;34(11):1574–1579
262. Yang SW, Lee YS, Chang LC, Hwang CC, Chen TA. Diagnostic significance of narrow-band imaging for detecting high-grade dysplasia, carcinoma in situ, and carcinoma in oral leukoplakia. *Laryngoscope*, 2012;122(12):2754–2761
263. Nguyen P, Bashirzadeh F, Hodge R, et al. High specificity of combined narrow band imaging and autofluorescence mucosal assessment of patients with head and neck cancer. *Head & Neck*, 2012;35(5):619–625
264. Betz CS, Mehlmann M, Rick K, et al. Autofluorescence imaging and spectroscopy of normal and malignant mucosa in patients with head and neck cancer. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1999;25:323–334
265. Pierce MC, Schwarz RA, Bhattar VS, et al. Accuracy of in vivo multimodal optical imaging for detection of oral neoplasia. *Cancer Prevention Research*, 2012;5:801–809

266. Curvers WL, Herrero LA, Wallace MB, et al. Endoscopic tri-modal imaging is more effective than standard endoscopy in identifying early-stage neoplasia in Barrett's esophagus. *Gastroenterology*, 2010;139(4):1106–1114
267. Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. *Science*, 1991;254(5035):1178–1181
268. Dhingra JK, Perrault DF Jr, McMillan K, et al. Early diagnosis of upper aerodigestive tract cancer by autofluorescence. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;122:1181–1186
269. Gillenwater A, Jacob R, Ganeshappa R, et al. Noninvasive diagnosis of oral neoplasia based on fluorescence spectroscopy and native tissue autofluorescence. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;124:1251–1258
270. Heintzelman DL, Utzinger U, Fuchs H, et al. Optimal excitation wavelengths for in vivo detection of oral neoplasia using fluorescence spectroscopy. *Photochem Photobiol* 2000;72:103–113
271. Inoue H, Kumagai Y, Yoshida T, Kawano T, Endo M, Iwai T. High-magnification endoscopic diagnosis of the superficial esophageal cancer. *Digestive Endoscopy*, 2000;12:32–35
272. Muto M, Katada C, Sano Y, Yoshida S. Narrow band imaging: a new diagnostic approach to visualize angiogenesis in superficial neoplasia. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2005;3(7):16–20
273. Richards-Kortum R, Sevick-Muraca E. Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis. *Annual Review of Physical Chemistry*, 1996;47:555–606
274. Pavlova I, Williams M, El-Naggar A, Richards-Kortum R, Gillenwater A. Understanding the biological basis of autofluorescence imaging for oral cancer detection: high-resolution fluorescence microscopy in viable tissue. *Clinical Cancer Research*, 2008;14(8):2396–2404
275. Huber MA. Assessment of the VELscope as an adjunctive examination tool. *Tex. Dent. J.*, 2009;126:528-535
276. Kois JC, Truelove E. Detecting oral cancer: a new technique and case reports. *Dent. Today*, 2006;25(94):96-97

277. Pavlova I, Weber CR, Schwarz RA, Williams MD, Gillenwater AM, Richards-Kortum R, Fluorescence spectroscopy of oral tissue: monte carlo modeling with site-specific tissue properties. *Journal of Biomedical Optics*, 2009; vol. 14, no. 1, Article ID 014009
278. Schwarz RA, Gao W, Stepanek VM, et al. Prospective evaluation of a portable depth-sensitive optical spectroscopy device to identify oral neoplasia. *Biomedical Optics Express*, 2010;2:89–99
279. Roblyer D, Richards-Kortum R, Sokolov K, et al. Multispectral optical imaging device for in vivo detection of oral neoplasia. *Journal of Biomedical Optics*, 2008; vol. 13, no. 2, Article ID 024019
280. Jayaprakash V, Sullivan M, Merzianu M, et al. Autofluorescence-guided surveillance for oral cancer. *Cancer Prevention Research*, 2009;2(11):966–974
281. Mallia RJ, Subhash N, Mathews A, et al. Clinical grading of oral mucosa by curve-fitting of corrected autofluorescence using diffuse reflectance spectra. *Head Neck*. 2010;32:763-779
282. Schwarz RA, Gao W, Redden Weber C, et al. Noninvasive evaluation of oral lesions using depth-sensitive optical spectroscopy. *Cancer*. 2009;115:1669-1679
283. Balevi B. Assessing the usefulness of three adjunctive diagnostic devices for oral cancer screening: a probabilistic approach. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 2011;39:171-176. doi:10.1111/j.1600-0528.2010.00579.x
284. Paderni C, Compilato D, Carinci F, Nardi G, Rodolico V, Lo Muzio L, Campisi G. Direct Visualization of Oral-Cavity Tissue Fluorescence as Novel Aid for Early Oral Cancer Diagnosis and Potentially Malignant Disorders Monitoring. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 2011;24(2):121–128. <https://doi.org/10.1177/03946320110240S221>
285. Garg P, Karjodkar F. Catch Them before it Becomes Too Late - Oral Cancer Detection. Report of Two Cases and Review of Diagnostic AIDS in Cancer Detection. *Int J Prev Med*. 2012 Oct; 3(10): 737–741. PMCID: PMC3483004 PMID: 23112903
286. Kulapaditharom B, Boonkitticharoen V. Performance characteristics of fluorescence endoscope in detection of head and neck cancers. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001;110:45–52

287. Betz CS, Stepp H, Janda P, Arbogast S, Grevers G, Baumgartner R, Leunig A. A comparative study of normal inspection, autofluorescence and 5ALA-induced PPIX fluorescence for oral cancer diagnosis. *Int J Cancer* 2002;97:245–252
288. Shin D, Vigneswaran N, Gillenwater A, Richards-Kortum R. Advances in fluorescence imaging techniques to detect oral cancer and its precursors. *Future Oncol.* 2010;6:1143-1154
289. Babiuch K, Chomyszyn-Gajewska M, Wyszzyńska-Pawelec G. Use of VELscope for detection of oral potentially malignant disorders. and cancers. *Medical and Biological Sciences.* 2012;26:11-6
290. Koch FP, Kaemmerer PW, Biesterfeld S, Kunkel M, Wagner W. Effectiveness of autofluorescence to identify suspicious oral lesions--a prospective, blinded clinical trial. *Clin Oral Investig* 2011;15:975-82
291. Cănjău S, Todea DCM, Sinescu C, Pricop MO, Duma VF. Fluorescence influence on screening decisions for oral malignant lesions. *Rom J Morphol Embryol* 2018;59(1):203–209
292. Moro A, Di Nardo F, Boniello R, Marianetti T, Cervelli D, Gasparini G, Pelo S. Autofluorescence and Early Detection of Mucosal Lesions in Patients at Risk for Oral Cancer. *Journal of Craniofacial Surgery*, 2010;21(6):1899-1903, DOI: 10.1097/SCS.0b013e3181f4afb4, PMID: 21119451
293. Westra WH, Sidransky D. Fluorescence visualization in oral neoplasia: shedding light on an old problem. *Clin Cancer Res.* 2006;12(22):6594–6597. [PubMed]
294. Laronde DM, Poh CF, Williams PM, et al. A magic wand for the community dental office? Observations from the British Columbia Oral Cancer Prevention Program. *J Can Dent Assoc.* 2007;73(7):607–609
295. Williams PM, Poh CF, Hovan AJ, Ng S, Rosin MP. Evaluation of a suspicious oral mucosal lesion. *J Can Dent Assoc.* 2008;74(3):275–280
296. Maymone M, Greer R, Burdine L, Dao-Cheng A, Venkatesh S, Sahitya P, Maymone A, Kesecker J, Vashi N. Benign oral mucosal lesions: Clinical and pathological findings. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2019;81(1):43–56 DOI: 10.1016/j.jaad.2018.09.061 PMID: 30447312

297. Maymone M, Greer R, Kesecker J, Sahitya P, Burdine L, Dao Cheng A, Maymone A, Vashi N. Premalignant and malignant oral mucosal lesions: Clinical and pathological findings. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2019;81(1):59–71, DOI: 10.1016/j.jaad.2018.09.060 PMID: 30447325