

Техники и методи за детекција и дијагноза на орални премалигни и малигни лезии

Бруно Николовски^{1*}, Даница Поповиќ Монеvsка², Ана Миновска³, Мирјана Поповска⁴, Вера Радојкова Николовска⁴

¹ПЗУ ЕТЕРНАдент – Скопје, Република Македонија; ²Клиника за максилофацијална хирургија, Стоматолошки факултет, Универзитет "Св. Кирил и Методиј" – Скопје, Скопје, Република Македонија; ³Факултет за медицински науки, Универзитет "Гоце Делчев", Штип, Република Македонија; ⁴Клиника за орална патологија и пародонтологија, Стоматолошки факултет, Универзитет "Св. Кирил и Методиј" – Скопје, Скопје, Република Македонија

Извадок

Цитирање: Николовски Б, Поповиќ Монеvsка Д, Миновска А, Поповска М, Радојкова Николовска В. Техники и методи за детекција и дијагноза на орални премалигни и малигни лезии. Макед Мед Електр С. 2015 Ное 10; 2015; 50016. <http://dx.doi.org/10.3889/mmej.2015.50016>

Клучни зборови: орални преанцерози; орален карцином; визуелни средства и молекуларни биолошки маркери.

Кореспонденција: Бруно Николовски, ПЗУ ЕТЕРНАдент – Скопје, Република Македонија. E-mail: nikolovskibruno@gmail.com

Примено: 20-Сеп-2015; **Ревидирано:** 30-Сеп-2015; **Прифатено:** 01-Окт-2015; **Објавено:** 10-Ное-2015

Печатарски права: © 2015 Бруно Николовски, Даница Поповиќ Монеvsка, Ана Миновска, Мирјана Поповска, Вера Радојкова Николовска. Оваа статија е со отворен пристап дистрибуирана под условите на Нелокализирана лиценца, која овозможува неограничена употреба, дистрибуција и репродукција на било кој медиум, доколку се цитираат оригиналниот(ите) автор(и) и изворот.

Конкурентски интереси: Авторите изјавуваат дека немаат конкурентски интереси.

ОСНОВА: Оралните премалигни и малигни лезии бележат тенденција на доцна детекција, која е на штета на пациентите поради високите стапки на морбидитет и морталитет. Токму затоа е важно раното дијагностицирање на овие нарушувања и заболувања.

ЦЕЛ: Целта на овој труд е да ги евалуираме дијагностичките средства и методи за детекција на премалигните и малигни орални лезии.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ: За изработка на овој труд, спроведовме автоматско детално пребарување на интернет базата PubMed за периодот од 1966 година до 2014 година. Клучни зборови според кои го изведовме пребарувањето беа: "орални преанцерози, орален карцином, визуелни средства и молекуларни биолошки маркери". Ги вклучивме и извештаите кои беа рецензирани и прифатени за објавување, а сеуште неиспечатени. Ги исклучивме статиите кои беа известувања од експерти, како и оние кои не беа од англиско издание или не беа изведени на хумани субјекти.

РЕЗУЛТАТИ: Од најчесто употребуваните техники и дијагностички тестови, виталните ткивни боења покажуваат сензитивност од 93.5% – 97.8% и нешто пониска специфичност од 73.3% - 92.9%. Употребата на современите алатки за визуелизација на ткивните аберации, бележат сензитивност од околу 30% и специфичност од 63%.

ЗАКЛУЧОК: Оралната цитологија, патохистолошкиот наод, молекуларните биолошки испитувања, како и примената на софистицирани визуелни средства во детекција на суспектните орални лезии, се смета дека ќе доведат до рано дијагностицирање и ќе го направи толкувањето на наодите далеку посигурно отколку порано.

Techniques and Methods for Detection and Diagnosis of Oral Premalignant and Malignant Lesions

Bruno Nikolovski^{1*}, Danica Popovic Monevska², Ana Minovska³, Mirjana Popovska⁴, Vera Radojkova Nikolovska⁴

¹PHO ETERNAdent – Skopje, Republic of Macedonia; ²University Clinic for Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Ss Cyril and Methodius University of Skopje, Skopje, Republic of Macedonia; ³Faculty of Medicine, "Goce Delchev" University, Shtip, Republic of Macedonia; ⁴University Clinic for Oral Pathology and Periodontology, Faculty of Dentistry, Ss Cyril and Methodius University of Skopje, Skopje, Republic of Macedonia

Citation: Nikolovski B, Popovic Monevska D, Minovska A, Popovska M, Radojkova Nikolovska V. [Techniques and Methods for Detection and Diagnosis of Oral Premalignant and Malignant Lesions]. *Maced Med Electr J.* 2015 Nov 10; 2015;50016. [Macedonian] <http://dx.doi.org/10.3889/mmej.2015.50016>

Key words: Oral precancerous lesions; oral cancer; visual tools and molecular biological markers.

Correspondence: Bruno Nikolovski, PHO ETERNAdent – Skopje, Republic of Macedonia. E-mail: nikolovskibruno@gmail.com

Received: 20-Sep-2015; **Revised:** 30-Sep-2015; **Accepted:** 01-Oct-2015; **Published:** 10-Nov-2015

Copyright: © 2015 Bruno Nikolovski, Danica Popovic Monevska, Ana Minovska, Mirjana Popovska, Vera Radojkova Nikolovska. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Abstract

BACKGROUND: Oral cancer has a tendency to be detected at late stage which is detrimental to the patients because of its high mortality and morbidity rates. Early detection of oral cancer is therefore important to reduce the burden of this devastating disease.

AIM: The aim of this article is to evaluate the diagnostic tools and methods in detection of the premalignant and malignant oral lesions.

MATERIAL AND METHODS: The systematic literature review was completed using the electronic database PubMed. Studies which met the inclusion criterion were English studies conducted between 1966, through 2014. Main search terms were: "oral premalignant, oral cancer, visual adjustments and molecular biological markers". We included late-breaking reports that had been peer-reviewed and accepted for publication. We excluded articles that were statements of expert opinion, as we did articles not involving human subjects.

RESULTS: Of most commonly used techniques and diagnostic tests, vital tissue staining showed a sensitivity of 93.5% - 97.8% and slightly lower specificity of 73.3% - 92.9%. The use of modern tools for visualization of tissue aberrations, showed a sensitivity of 30% and specificity of 63%.

CONCLUSION: Oral cytology, pathohistological findings, molecular biological investigations, as well as the use of sophisticated visual tools in detection of the suspect oral lesions, is thought that will upgrade the early diagnosis and make the interpretation of the findings far more secure than before.

Вовед

Во изминатите неколку децении, се појавија дополнителна техники за детекција на премалигни лезии со цел подобрување на оралните испитувања и полесно откривање на разликите помеѓу оралните бенигни и оралните премалигни и малигни лезии (ОПМЛ). Клиничарите кои ги користат овие средства треба да се запознаени со степенот на нивната ефикасност. Техниките кои се промовирани за порано откривање и дијагностицирање на оралните малигнитетI вклучуваат толуидин сино (ТС), ViziLite Plus со ТС, ViziLite, Microlux D.L., Orascope, VELscope и OralCDx brush биопсија.

Во земјите во развој, како што се Индија, каде постои висока преваленца на болеста, при дијагностицирањето, фокусот е ставен на одредување на стадиумите на оралниот карцином.

Во САД, пак, дополнителните техники се препорачуваат за да се олесни детекцијата на премалигните заболувања. Се претпоставува дека ако премалигните лезии се откријат и се лекуваат, тие лезии може да не прогредираат до карцином.

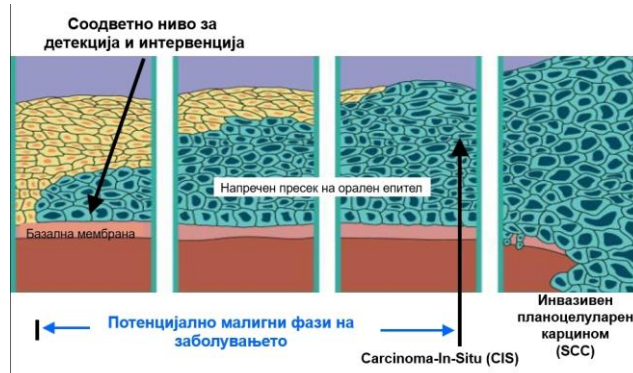
Целта на нашиот труд е да се евалуираат средствата и дијагностичкиот потенцијал на големиот број оптички уреди за визуелизација на премалигните и малигни орални лезии, како и цитолошките и патохистолошки испитувања, молекуларните и генетски фактори кои денес се користат.

Техники за детекција

Витално бојење на ткивото

Толониум хлоридот, попознат како Толуидинско сино (ТС), се користи повеќе од 40 години како средство за детекција на мукозни абнормалности на грлото на матката и усната шуплина. ТС е метахроматска боја која може да се поврзе првенствено со ткивата подложени на брза клеточна делба (како што се воспалено ткиво, ткиво во фаза на регенерација и неопластично ткиво), на местата на ДНК промени поврзани со орални премалигни и малигни лезии (ОПМЛ) или обете. Врзувањето резултира во бојење на абнормалното ткиво за разлика од соседната нормална слузница [1]. За употреба на ткивното бојење со ТС, изолирано или како дополнителна постапка при детекција на преканцерозните орални лезии, пронајдовме повеќе студии [1-5]. Кај неколку студии бојењето со ТС беше изведено како дополнителна техника кај популација со низок ризик. Во една студија беше користено бојење со

ТС за детекција на мукозни промени кај пациенти со претходен третман за карцином во горните дигестивни партии, без претходно знаење за постоење на орални манифестации [3]. Истражувачите во одредени студии го означуваат ТС како дополнителна дијагностичка метода кај лица со суспектни лезии, хистолошки докажана дисплазија или карцином кај пациенти со висок ризик [2, 4, 5]. Утврдената сензитивност при изолирано визуелно испитување е со помала вредност од сензитивноста утврдена кај испитувањата каде како дополнителна техника било употребувано толуидин синото пребојување.



Слика 1: Развој на малигно заболување во устата

Начинот на примена на виталните бои е преку испирање на усната празнина со оралните антисептични раствори или пак со топично премачкување со помош на стапчиња натопени во различни препарати од ТС. Некои студии се базираат на еднократна апликација во почетокот; други користат низа од две апликации, (втората после две недели од првата апликација), за намалување на лажно позитивните наоди. Позитивна пребоена лезија, генерално се смета дека е лезија која демонстрира пенетрирање на сината боја, иако некои лезии прикажуваат нецелосно, парцијално навлегување, па според тоа лезиите биле најразлично класифицирани. Биопсија не била изведена кај сите позитивни пребоени лезии во сите пронајдени студии. Преваленцата на хистопатолошкиот златен стандард во дијагностиката се движи од 26-100% и се разликува меѓу сквамозен карцином (СК) и дисплазија, carcinoma in situ или други малигноми. Толуидинско Сино методот е ефективен како дијагностичко средство кај високо-ризичните групи, пациенти со историја на некоја ОПМЛ и пациенти со познати фактори на ризик. ТС, исто така е ефикасен како дијагностичко средство при проценување на мукозни лезии со висок ризик.

Средства за визуелизација

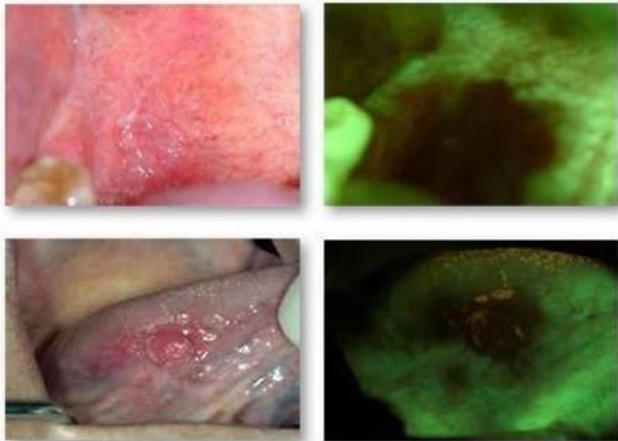
Средствата за визуелизација, се користат како дополнување на стандардните визуелни и тактилни орални испитувања изведени под силна

светлина. Тие функционираат под претпоставка дека мукозните ткива подложени на абнормални метаболни или структурни измени имаат различни апсорпција и рефлексивност кога се изложени на различни форми на светлина или енергија.

- Опишан како хемилуминисцентен систем за детекција, ViziLite е развиен како уред за откривање неоплазија на грлото на матката. По примена на оцетна киселина, местата на епителната пролиферација кои поседуваат клетки со променета нуклеарна структура, селективно рефлектираат ниска енергија со сино-бела светлина, емитирана од страна на уредот за генерирање. Системот ViziLite повеќе не е достапен како еден производ, туку е дел од ViziLite Plus со TC (Толуидинско сино) систем.

- MicroLux DL системот е повеќенаменски систем развиен од сино-бела светлосно емитирачка диода (ЛЕД) и дифузен фибер-оптички водич на светлина кој генерира ниско-енергетска сина светлина.

- Orascopic DK системот на пазарот се наоѓа како "три-во-едно", рачен ЛЕД инструмент на батерија со прицврстен инструмент за скрининг на орални лезии, кој се користи со благ раствор на оцетна киселина, промовиран за подобрена визуелизација на оралните лезии.



Слика 2: Инспекција на орална слузница (лево) и визуелизација со ВЕЛСКОП системот (десно)

- Системот VELscope е повеќенаменски уред со рачен дел преку кој терапевтот може визуелно да ја скенира слузницата кога има промени во флуоресценцијата на ткивото. Предложениот механизам на флуоресценција на ткивото е дека мукозните ткива имаат рефлективна и апсорптивна моќ, кои се должат на присутните флуорофори во ткивото. Ткивната флуоресценција во усната празнина е променлива и е под влијание на структурни промени, метаболна активност, присуство на хемоглобин во ткивото, дилатација на крвните садови, а можеби и воспаление. Оваа варијабилност не е

дефинирана. Изложеноста на спектар на сина светлина (400-460 нанометри) може да го зголеми различниот профил во региите подложени на неопластични промени во кои настанува губење на флуоресцентната визуелизација. VELscope, е корисен во проценување на маргините на лезијата кај пациенти со ОПМЛ и, според тоа, може да биде корисен при хируршкиот третман.

За користење на дополнителни средства за визуелизација со хемилуминисценција или флуоресценција како ViziLite и VELscope за детекција на оралните премалигни мукозни лезии, во пет студии беа исполнети критериумите за инклузивност [5-9]. Сите студиите изведени со ViziLite и VELscope, ги проценуваат нивните перформанси како дијагностичко средство кај пациенти кои имале орални лезии. Преваленцата на популација со диспластични и неопластични состојби е висока, и се движи од 18-88%. Три студии го проценуваат ViziLite системот [5, 6, 9] и две студии го проценуваат VELscope [7, 8].

Прикажаната сензитивност на ViziLite е во целосна согласност во сите три студии (100% совпаѓање), бидејќи студиите вклучуваат само пациенти со претходно визуелизирани мукозни лезии. Резултатите од овие студии сугерираат подобрување во визуелните параметри на лезиите во однос на осветленоста, остријата (маргинално разграничување), површинската текстура, а во некои случаи во големината на лезијата, во споредба со резултатите од испитувањето со помош на стандардно осветлување.

Во споредба со сензитивноста на хистопатолошкото испитување кај пациенти со идентификувани диспластични лезии од висок степен и орален сквамозен карцином (ОСК), сензитивноста на ткивната автофлуоресценција со VELscope технологијата како дополнително средство за визуелно испитување е 98% и 100%; специфичноста изнесува 100% и 78%; позитивната прогностичка вредност (ППВ) е 100% и 66%; а негативна прогностичка вредност (НПВ) 86% и 100% проценти, соодветно [7, 8]. Двете студии за VELscope технологијата се спроведени во истиот центар кај пациенти со орална дисплазија или ОСК потврдени со биопсија и не вклучуваат употреба на дополнителна технологија за откривање и дијагностицирање на нови лезии.

Цитопатологија

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. OralCDx Brush Test системот користи специјализирана четка кој собира трансепителни клеточни примероци составени од слободни клетки и кластери. Овие примероци се фиксираат

на стакло и се бојат (со помош на модифициран Папаниколау тест), се скенираат и се анализираат под микроскоп со помош на компјутерски имиджинг систем, кој може да рангира клетки, врз основа на степенот на абнормалната морфологија [10, 11]. Резултатите се пријавуваат како "негативни или бенигни", "позитивни" или "атипични". Абнормалните OralCDx дијагнози вклучуваат "позитивен" резултат (дефиниран како дефинитивен доказ на епителната клеточна дисплазија или карцином) и "атипичен" резултат (што е дефинирано како абнормални епителни промени со неодредено дијагностичко значење). OralCDx цитолошкиот тест има примена во откривањето диспластични промени во мукозни лезии со висок ризик. Постојатките податоци не се доволни за да се процени примената кај нискоризична популација или клинички едноставните лезии, со оглед на недостатокот на податоци кои ги исполнуваат инклузивните критериуми. Овој тест е промовиран за да се проценат лезиите кои клиничарот не може понатаму да ги испита. Не се препорачува за проценка на клинички сомнителни лезии при кои нормално ќе се врши биопсија.

Биопсија

Дијагностички тест кој претставува златен стандард за потенцијалните премалигни или малигни орални мукозни лезии, останува биопсијата и хистопатолошките испитувања на ткивата [12]. Сепак, наодите меѓу патолозите се разликуваат во дијагнозата на лесна и умерена дисплазија, што го сочинуваат најголемиот дел од премалигните заболувања [13, 14] и во одредувањето на раниот стадиум на инвазија на карцином *in situ* или оралниот сквамозен карцином (ОСК). Покрај тоа, дијагнозата на ОСК со помош на хистопатолошко испитување зависи од препознавањето и доволно земање на материјал од оралните лезии поради варијациите во микроскопските промени во рамките на клиничките лезии. Исто така, хистопатолошки промени можат да бидат присутни во области во кои не постојат клинички знаци на орална лезија при визуелен преглед (на пример, "поле на канцеризација") [15].

Дијагнозата на дисплазија од "висок" степен е потврден, предвидлив маркер за малигна трансформација. Спротивно на тоа, потенцијалот за прогресија од дисплазија со "низок" степен во ОСК може подобро да се предвиди со комбинација на хистопатолошки и молекуларни промени. Со оглед на големиот број на видливи и окултни орални епителни лезии со малиген потенцијал што се среќаваат во клиничката пракса, од кои повеќето најверојатно се бенигни, идентификацијата на оние кои не се бенигни е критична.

Молекуларните и генетски промени можат да им претходат на клиничките и микроскопските

морфолошки промени и можат да бидат присутни во хистолошки бенигно ткиво.

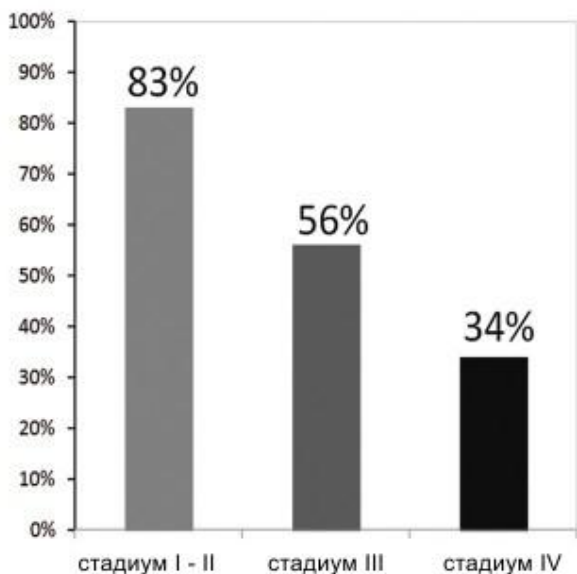
Молекуларни биолошки аспекти поврзани со малиген потенцијал

Постојат бројни известувања за примена на молекуларно-биолошки маркери за проценка на ризикот од карцином [16]. При евалуација на молекуларните промени во оралните преанцерози и оралниот карцином, треба да се напомене дека постојат разлики во етничките и етиолошки карактеристики во различни делови од светот [17].

Постои двоен пристап во изучувањето на маркерите на малиген развој. Во некои студии, епителната дисплазија, од една страна, и оралниот карцином од друга, се карактеризираат во однос на присуство/отсуство или моделот на дистрибуција на бараниот маркер. Од интерес се истражувања за маркерите кои се смета дека се директно поврзани со развој на малигнитетот, како што е експресијата на онкогените или загубата на тумор супресорните гени. Евидентиран е фактот дека одредени реактивни лезии и бенигни тумори понекогаш прикажуваат карактеристики на епителна дисплазија. Реакцијата на молекуларните маркери во такви лезии се во голема мера непознати; Сепак, неколку студии прикажуваат дека и бенигните лезии, во некои случаи презентираат реакционен модел сличен како кај епителната дисплазија и карциномот. Една студија покажува дека хиперпластичната орална слузница во инфламирните примероци (воспалителна папиларна хиперплазија на палатумот), кои се ретка појава ако се поврзани со малиген развој, покажува значителен пораст во позитивно обоени клетки за p53 и зголемувањето на бројот маркер (пролиферација на целуларен нуклеарен антиген [PCNA]) во споредба со нормалниот епител од палатумот [18], додека друга студија открива сличен пораст на клетките кои позитивно се обоени за маркерите на регулација на клеточниот циклус (PCNA, Ki-67, AgNORs) кај инфламирани споредено со неинфламирани кератоцити [19]. Една неодамнешна студија заклучува дека моделот на кератинската генска експресија може да биде нарушена како одговор на стимулуси од типот на фриксија или пушење, или пак имунолошки посредувани механизми [20].

Маркери со најдобри карактеристики за одредување на идниот развој на канцерот во оралните премалигни лезии можат да се поделат на: (1) геномски маркери, вклучувајќи ДНК содржина (плоидитет), хромозомски аберации (алелна загуба), како и промени во експресијата на онкогени и тумор супресорни гени (p53); (2)

пролиферативни маркери; и (3) диференцијациски маркери, вклучувајќи кератини и карбохидратни антигени. Очигледно, ова поле на истражување рапидно се развива и веројатно нови потенцијални предвидувачки маркери се на повидок.



Слика 3: Стапка на преживување (5 годишно) кај орален карцином

(A) ДНК анеуплоидија

Содржината на ДНК (DNA ploidy) во клетките дава груб приказ на генетската нестабилност и ДНК аберација. Во случаи на канцер, генетски стабилните диплоидни клетки се заменуваат со генетски нестабилни анеуплоидни клетки. Во оралниот сквамозен карцином, ДНК анеуплоидијата е проучувана преку цитометрија, и наодите покажуваат дека анеуплоидните туморски популации се присутни во голем број случаи и дека пloidниот статус е важен прогностички фактор [21]. Други студии, сепак, не наоѓаат било каква прогностичка вредност на ДНК пloidниот статус [22]. Во оралните леукоплакии, анеуплоидните популации, исто така, се прикажани со [23] или без [24] корелација со степенот на дисплазија.

ДНК анеуплоидија се смета за моќен показател на малиген развој на оралните леукоплакии и еритроплакии, додека нормалната ДНК содржина укажува на низок ризик. Сепак, иако анализираниот примерок беше релативно голем, клиничката вредност на овој маркер мора да се евалуира во проспективни испитувања со поширок размер.

(Б) Загуба на хетерозиготност (3X)

Загубата на геномскиот материјал во еден хромозом од хромозомскиот пар се нарекува

загуба на хетерозиготност (3X). 3X на хромозомските региони кои би требало да содржат тумор супресорни гени, би можеле да асоцираат со процесот на малиген развој, иако е докажано дека развојот на малигни заболувања, во целина, бара повеќе генетски промени [25]. 3X во супресорните гени 3p и 9p, укажува на поврзување со поголема можност за развој на малигни од премалигни лезии [26], иако со подолготрајно следење се намалува асоцираноста [27]. Други хромозомски загуби во прилог на 3p и 9p ја зголемуваат можноста на малиген развој [26]. Зачестеноста на 3X во оралната леукоплакија со фокуси на рана малигназија (фокуси со суперфицијален инвазивен раст) се среќава токму во овие фокуси. Анализата на 3X се сугерира дека има големо значење и во диференцијацијата на верукозна хиперплазија/верукозен карцином од реактивните лезии [28].

(B) P53

Мутација на тумор супресорните гени p53 се претпоставува дека е најчеста генетска промена кај хуманите карциноми [29]. Физиолошките функции на p53 протеинот е превенција од акумулација на генетско оштетување на клетките, преку можноста за поправка на оштетувањето пред клеточната делба или со предизвикување смрт на клетката. Нормален p53 протеин има многу краток полуживот; квантитетот во нормалните клетки е многу мал. Затоа и најчесто тешко се детектира преку имунохистохемиските анализи. Мутираниот p53 протеин има продолжен полуживот и може да се акумулира во клетките на нивоа кои се забележливи. Овој измутиран протеин во нормални услови е неактивен, што доведува до загуба на тумор супресорната функција на протеинот. Повеќе од 50% од оралниот сквамозен карцином се позитивни за p53 протеинот [30]. И во оралната епителна дисплазија кај оралниот карцином и во епителните дисплазии кои не се поврзани со орален карцином, се докажува експресијата на p53 протеинот и генетските мутации [31]. Неколку студии ги компарираат p53 боењата кај пре-малигните лезии со последователната малигна алтерација [32]. Следнава студија, водејќи сметка за моделот на експресија на p53 во ниво на епителот, сугерира дека јасната експресија на p53 над базалниот клеточен слој е показател на карцином во развој, дури и во отсуство на евидентна малигназија [33]. Сепак, се препорачува дека конвенционалните хистолошки параметри, исто така, треба да бидат земени во предвид, бидејќи позитивноста на p53 не секогаш се среќава во лезиите кои се подложни на малигна трансформација. Во имунохистохемиска анализа за p53 и p21, едни од целните гени активирани со p53, во 53 случаи со верукозна орална

леукоплакија се утврдува дека несоодветната имунореактивност на p53 и p21 е тесно поврзана со малигна трансформација [34]. Во повеќето случаи на орален сквамозен карцином, експресијата на p21 не зависи од статусот на p53 [35], додека пак [36], наведуваат дека експресијата на p21 се чини дека е во врска со статусот на p53.

(Г) диференцирачки маркери

Карбохидрати на површината на клетката: Карбохидратите на површината на клетката со активност на антигените на крвната група се широко распространети во хуманите ткива [37]. Терминот "ткивно-крвна група антигени" се однесува на антигени на крвна група кои се наоѓаат во клетките, освен еритроцитите. Ткивно-крвна група антигени на АВН, Lewis, и T/Tn системите се присутни на површината на епителните клетки во оралниот сквамозен епител [37]. Во текот на клеточна диференцијација во слоевитиот сквамозен епител, се случува селекцијално издолжување на терминалната карбохидратна низа на прекурсори од ткивно-крвната група антигени од дејството на генетски кодираните гликозилтрансферази.

Кератини: Кератини се протеини кои го сочинуваат средните филаменти од цитоскелетонот на епителните клетки. Познати се околу 20 кератини, и тие се нумерирани 1-20. Во оралниот сквамозен епител, одреден сет на кератини е присутен во нормални услови; меѓутоа, за време на малигна трансформација, евидентни се промени во видот или дистрибуцијата на кератините. Во нормалниот орален епител, K5/K14 се присутни во базалниот клеточен слој, додека K4/K13 и K1/K10 се присутни во спинозниот клеточен слој во некератинизиран и кератинизиран епител, соодветно. Во принцип, дистрибуцијата на кератин мРНК вклучува поголем број на епителни клеточни слоеви од соодветните протеини, што покажува дека овие гени се во пост-транскрипциона контрола [5].

Во нормалната орална лигавица, кератините 8 и 18, не се откриени по пат на имунохистохемски анализи, иако нивната мРНК е присутна кај базалните и пониските спинозни клетки [38]. Меѓутоа, кај оралните епителни дисплазии, овие кератини биле откриени преку имунохистохемски постапки кај повеќе од половина од случаите. Дали оваа протеинска експресија се должи на ослободување на пост-транскрипционен блок или супресија на нивната брза деградација во нормалниот епител, е сеуште не познато [38]. Во умерена до напредната дисплазија и карцином *in situ*, без разлика дали е хиперкератинизиран или не, изразито боење за K19 било пронајдено во базалните и супрабазалните целуларни слоеви. Во оваа студија, експресијата на K19 мРНК било присутно

во кератинизираниот и некератинизиран нормален епител, но поизразено во клетки од диспластичниот епител.

Отсуство на кератините поврзани со диференцијацијата во диспластичните лезии може да биде ветувачки маркер кој корелира со дисплазиите и малигните трансформации. Сепак недостасуваат студии кои ќе ги следат промените на кератинската експресија при малигна алтерација.

Во заклучок, молекуларна и генетска анализа не е рутинска процедура за детекција на оралните лезии. Новите методи на истражување, кои вклучуваат испитување на молекуларни маркери во раслоените клетки и во оралните флуиди и новите имиџинг методологии, може да придонесат за идниот напредок во дијагнозата, евалуација на одговорот на третманот и утврдување на прогнозата на оралните мукозни лезии. Останува неизвесноста за тоа, дали употребата на средства за идентификација и проценка на оралните мукозни отстапувања ќе резултира со значајно намалување на морбидитетот и морталитетот преку зголемено внимание и ангажирање од страна на медицинскиот кадар, вклучен во раната детекција и дијагностика на ОПМЛ.

Литература

1. 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):535-540. <http://dx.doi.org/10.1067/moe.2001.112949> PMID:11346731
2. Epstein JB, Zhang L, Poh C, Nakamura H, Berean K, Rosin M. Increased allelic loss in toluidine blue-positive oral premalignant lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95(1):45-50. <http://dx.doi.org/10.1067/moe.2003.97> PMID:12539026
3. Epstein JB, Feldman R, Dolor RJ, Porter SR. The utility of toluidine chloride rinse in the diagnosis of recurrent or second primary cancers in patients with prior upper aerodigestive tract cancer. *Head Neck.* 2003;25(11):911-921. <http://dx.doi.org/10.1002/hed.10309> PMID:14603451
4. Zhang L, Williams M, Poh CF, et al. Toluidine blue staining identifies high-risk primary oral premalignant lesions with poor outcome. *Cancer Res.* 2005;65(17):8017-8021. PMID:16140975
5. 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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijom.2004.10.008> PMID:16053872
6. 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(8):820-824. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2006.10.005> PMID:17169603
7. Lane PM, Gilhuly T, Whitehead P, et al. Simple device for the direct visualization of oral-cavity tissue fluorescence. *J Biomed Opt.* 2006;11(2):024006. <http://dx.doi.org/10.1117/1.2193157> PMID:16674196
8. Poh CF, Zhang L, Anderson DW, et al. Fluorescence visualization detection of field alterations in tumor margins of oral cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2006;12(22):6716-6722. <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1317> PMID:17121891
9. 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.* 2008;44(6):538-544. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2007.08.011> PMID:17996486

10. Poate TW, Buchanan JA, Hodgson TA, et al. An audit of the effi efficacy of the oral brush biopsy technique in a specialist oral medicine unit. *Oral Oncol.* 2004;40(8):829-834. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2004.02.005> PMID:15288839
11. 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):824-828. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2004.02.004> PMID:15288838
12. 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. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1610-0387.2007.06397.x> PMID:18042091
13. Fischer DJ, Epstein JB, Morton TH Jr, Schwartz SM. Reliability of histologic diagnosis of clinically normal intraoral tissue adjacent to clinically suspicious lesions in former upper aerodigestive tract cancer patients. *Oral Oncol.* 2005;41(5):489-496. <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2004.12.007> PMID:15878753
14. 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. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0714.2004.0037n.x> PMID:14720191
15. Thomson PJ. Field change and oral cancer: new evidence for widespread carcinogenesis? *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31(3): 262-266. <http://dx.doi.org/10.1054/ijom.2002.0220> PMID:12190131
16. Dabelsteen E. ABO blood group antigens in oral mucosa. What is new? *J Oral Pathol Med.* 2002;31:65-70. <http://dx.doi.org/10.1046/j.0904-2512.2001.00004.x> PMID:11896825
17. Paterson IC, Eveson JW, Prime SS. Molecular changes in oral cancer may reflect aetiology and ethnic origin. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1996;32(B):150-153.
18. Kaplan I, Vered M, Moskona D, Buchner A, Dayan D. An immunohistochemical study of p53 and PCNA in inflammatory papillary hyperplasia of the palate: a dilemma of interpretation. *Oral Dis.* 1998;4:194-199. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-0825.1998.tb00278.x> PMID:9972170
19. De Paula AM, Carvalhais JN, Domingues MG, Barreto DC, Mesquita RA. Cell proliferation markers in the odontogenic keratocyst: effect of inflammation. *J Oral Pathol Med.* 2000;29:477-482. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0714.2000.291001.x> PMID:11048963
20. Bloor BK, Seddon SV, Morgan PR. Gene expression of differentiation-specific keratins in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2001;37:251-261. [http://dx.doi.org/10.1016/S1368-8375\(00\)00094-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1368-8375(00)00094-4)
21. Schimming R, Hlawitschka M, Haroske G, Eckelt U. Prognostic relevance of DNA image cytometry in oral cavity carcinomas. *Anal Quant Cytol Histol.* 1998;20:43-51. PMID:9513690
22. Bundgaard T, Sørensen FB, Gaihede M, Sogaard H, Overgaard J. Stereologic, histopathologic, flow cytometric, and clinical parameters in the prognostic evaluation of 74 patients with intraoral squamous cell carcinomas. *Cancer.* 1992;70:1-13. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142\(19920701\)70:1<1::AID-CNCR2820700102>3.0.CO;2-S](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142(19920701)70:1<1::AID-CNCR2820700102>3.0.CO;2-S)
23. Saito T, Yamashita T, Notani K, Fukuda H, Mizuno S, Shindoh M, et al. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in oral leukoplakia: relation to clinicopathologic findings. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1995;24:44-47. [http://dx.doi.org/10.1016/S0901-5027\(05\)80855-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0901-5027(05)80855-0)
24. Högmo A, Munck-Wikland E, Kuylentierna R, Lindholm J, Auer G. Nuclear DNA content and p53 immunostaining in metachronous preneoplastic lesions and subsequent carcinomas of the oral cavity. *Head Neck.* 1996;18:433-440. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0347\(199609\)18:5<433::AID-HED6>3.0.CO;2-6](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0347(199609)18:5<433::AID-HED6>3.0.CO;2-6)
25. Renan MJ. How many mutations are required for tumorigenesis? Implications from human cancer data. *Mol Carcinog.* 1993;7:139-146. <http://dx.doi.org/10.1002/mc.2940070303> PMID:8489711
26. 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;6:357-362. PMID:10690511
27. Lee JJ, Hong WK, Hittelman WN, Mao L, Lotan R, Shin DM, et al. Predicting cancer development in oral leukoplakia: ten years of translational research. *Clin Cancer Res.* 2000;6:1702-1710. PMID:10815888
28. Poh CF, Zhang L, Lam WL, Zhang X, An D, Chau C, et al. A high frequency of allelic loss in oral verrucous lesions may explain malignant risk. *Lab Invest.* 2001;81:629-634. <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.3780271> PMID:11304582
29. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res.* 1994;54:4855-4878. PMID:8069852
30. Nylander K, Dabelsteen E, Hall PA. The p53 molecule and its prognostic role in squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Oral Pathol Med.* 2000;29:413-425. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0714.2000.290901.x> PMID:11016683
31. Califano J, van der Riet P, Westra W, Nawroz H, Clayman G, Piantadosi S, et al. Genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization. *Cancer Res.* 1996;56:2488-2492. [http://dx.doi.org/10.1016/s0194-5998\(96\)80594-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0194-5998(96)80594-8)
32. Shahnavaz SA, Regezi JA, Bradley G, Dube ID, Jordan RC. p53 gene mutations in sequential oral epithelial dysplasias and squamous cell carcinomas. *J Pathol.* 2000;190:417-422. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(200003\)190:4<417::AID-PATH544>3.0.CO;2-G](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(200003)190:4<417::AID-PATH544>3.0.CO;2-G)
33. Cruz IB, Snijders PJ, Meijer CJ, Braakhuys BJ, Snow GB, Walboomers JM, et al. p53 expression above the basal cell layer in oral mucosa is an early event of malignant transformation and has predictive value for developing oral squamous cell carcinoma. *J Pathol.* 1998;184:360-368. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199804\)184:4<360::AID-PATH1263>3.0.CO;2-H](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199804)184:4<360::AID-PATH1263>3.0.CO;2-H)
34. Chang K-W, Lin S-C, Kwan P-C, Wong Y-K. Association of aberrant p53 and p21WAF1 immunoreactivity with the outcome of oral verrucous leukoplakia in Taiwan. *J Oral Pathol Med.* 2000;29:56-62. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0714.2000.290202.x>
35. Warnakulasuriya S. *Cancers of the oral cavity and pharynx.* In: Genetic basis of human cancer. Vogelstein B, Kinzler KW, editors. London: McGraw-Hill, 2002:pp. 773-784.
36. Piffko J, Bankfalvi A, Joos U, Öfner D, Krassort M, Schmid KW. Immunophenotypic analysis of normal mucosa and squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer Detect Prev.* 1999;23:45-56. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1525-1500.1999.09903.x> PMID:9892990
37. Ravn V, Dabelsteen E. Tissue distribution of histo-blood group antigens. *APMIS.* 2000;108:1-28. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0463.2000.d01-1.x> PMID:10698081
38. Su L, Morgan PR, Lane EB. Keratin 14 and 19 expression in normal, dysplastic and malignant oral epithelia. A study using in situ hybridization and immunohistochemistry. *J Oral Pathol Med.* 1996;25:293-301. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0714.1996.tb00265.x> PMID:8887072