

PROGETTO DI RICERCA / RESEARCH PROJECT

Cognome/Surname	Buttacavoli
Nome / Name	Fortunato
Titolo del progetto / Project title	Potenziale dell'applicazione in vivo della Tomografia a Coerenza Ottica nella valutazione di lesioni orali potenzialmente maligne e del cancro orale
Corso di dottorato / PhD	Oncologia e Chirurgia sperimentali
Firma del candidato / Applicant's signature	

1 - Sommario / Abstract

I disordini orali potenzialmente maligni (OPMD) costituiscono un gruppo significativo di lesioni e condizioni patologiche della mucosa orale che sono associate ad un aumentato rischio di trasformazione maligna (MT) e sviluppo di cancro invasivo del cavo orale del quale possono precederne la diagnosi. In presenza di OPMD il rischio di sviluppare una lesione maligna risulta aumentato anche per quelle zone di mucosa che non si presentano alterate clinicamente. Questi disordini sono principalmente rappresentati da: leucoplachia, leucoplachia verrucosa proliferativa (PVL), eritroplachia, lichen planus orale (OLP), cheratosi attinica/cheilite attinica (AK/AC), lupus eritematoso orale (OLE) e discheratosi congenita (DKC); a queste, il Consensus Workshop WHO 2020 ha aggiunto le lesioni lichenoidi orali (OLL) e la graft-versus-host disease orale (GvHD)¹. Sebbene gli OPMD siano molto eterogenei per aspetto clinico, la loro evoluzione istopatologica più frequente in senso neoplastico è quella di carcinoma orale a cellule squamose (OSCC); molto variabili sono anche i tassi di MT degli OPMD che oscillano da 1,4% a 49,5% su un periodo di follow-up che va da 12 mesi a 20 anni². Quindi, la previsione del rischio di trasformazione per ogni sottotipo di OPMD rimane una sfida significativa nella pratica specialistica. Ad oggi, il "gold standard" alla quale si ricorre per la diagnosi di OPMD e OSCC è rappresentata dal prelievo biotico e successivo esame istopatologico del sito più rappresentativo della lesione; questa metodica chirurgica consta di più fasi, ciascuna delle quali potrebbe presentare delle limitazioni connesse all'operatore o alle stesse modalità di esecuzione. Pertanto, sono state sviluppate diverse nuove ed emergenti tecniche diagnostiche per il cavo orale caratterizzate da: non invasività, assenza di radiazioni ionizzanti, maggiore tollerabilità, informazioni in tempo reale, ripetibilità e possibilità di avere immagini ad alta risoluzione; nonostante ciò, ad oggi nessuna si è dimostrato capace di sostituire il "gold standard". In tale panorama si è imposta già da tre decenni l'Optical Coherence Tomography (OCT), ampiamente utilizzata in numerose applicazioni mediche cliniche ivi comprese quelle odontoiatriche³.

L'OCT si basa sull'uso di interferometri e di una sorgente luminosa a banda larga e bassa coerenza che permette di ottenere un imaging a sezione trasversale di microstrutture di tessuto in situ con una risoluzione spaziale eccellente ed immagini in tempo reale di una "biopsia ottica" senza la necessità di asportazione e processazione del campione e con possibilità di ricostruzione 3D⁴. L'OCT è in grado di rilevare cambiamenti morfologici qualitativi e quantitativi dei tessuti orali sia duri che molli in vivo, pertanto, può essere utilizzata per la diagnosi precoce di carie, malattia parodontale, OPMD e cancro orale⁵. L'OCT viene considerata una metodica valida nell'identificazione di alterazioni cito-architetturali degli strati tissutali mediante il confronto dei dati con essa ottenuti rispetto a quelli ottenuti dall'analisi istopatologica di lesioni orali⁶. In questo contesto sarebbe quindi interessante valutare la validità, i potenziali ed i benefici dell'utilizzo clinico dell'OCT nello

studio delle alterazioni strutturali dei tessuti orali affetti da OPMD e OSCC, seguendo la descrizione del presente progetto di ricerca che verrà di seguito articolata in semestri (I-VI).

2 - Descrizione del progetto / Project

Obiettivi del progetto di ricerca

- Dimostrare la fattibilità ed esplorare i benefici clinici dell'OCT nella diagnosi di OPMD e di stati cancerosi precoci del cavo orale.
- Confrontare le immagini ottenute attraverso l'utilizzo in vivo dell'OCT in tessuti con sospette lesioni maligne del cavo orale con le immagini ottenute attraverso l'esame istopatologico, al fine di identificare verosimiglianze strutturali che possano caratterizzare la presenza di OPMD e OSCC nell'una e nell'altra indagine.
- Validare il sistema OCT di nuova concezione paragonandolo all'analisi istopatologica e quindi testarne la sensibilità, specificità nella diagnosi di OPMD e cancro orale.
- Eseguire una revisione sistematica della letteratura riguardo l'utilizzo in medicina orale della metodica OCT nella diagnosi e nel follow-up di OPMD e OSCC.

Obiettivi secondari del progetto di ricerca

- Utilizzare OCT per monitorare le OPMD e le lesioni maligne del cavo orale come coadiuvante alla biopsia.
- Paragonare validità, affidabilità e riproducibilità della metodica OCT rispetto alla biopsia convenzionale.

Obiettivi opzionali

- Studiare i requisiti dell'analisi 3D delle scansioni mediante OCT e sviluppare una procedura di analisi 3D efficiente e riproducibile confrontandone le prestazioni diagnostiche con quelle dell'attuale approccio 2D trasversale standard di riferimento.
- Ottenere una banca dati di imaging OCT dei tessuti orali patologici che consentano di identificare le caratteristiche microstrutturali cellulari nei processi patologici confrontandoli con quelle ottenute dall'analisi istopatologica con l'obiettivo di creare un algoritmo diagnostico computerizzato automatico che può essere utilizzato nella diagnosi precoce dei disturbi orali ovviando alla dipendenza dell'operatore.

Disegno dello studio

Il presente studio sarà di tipo sperimentale longitudinale prospettico caso-controllo, con un gruppo sperimentale (EG) formato dall'insieme di immagini ottenute mediante la metodica OCT di pazienti con sospette OPMD e lesioni maligne ed un gruppo controllo (CG) rappresentato dalle immagini istopatologiche ottenute dal prelievo bioptico delle stesse zone prima analizzate mediante OCT.

Arruolamento e Campionamento

Le fasi di arruolamento e campionamento verranno eseguite presso il Dipartimento di Discipline Chirurgiche, Oncologiche Stomatologiche (DiChirOnS) e presso l'ambulatorio di Medicina Orale dell'A.O.U.P. "Paolo Giaccone" di Palermo. Sarà previsto un arruolamento di pazienti afferenti al suddetto reparto pari a n. 100 con diagnosi clinica di OPMD e OSCC. Le fasi di laboratorio prevedranno l'utilizzo delle apparecchiature dell'A.O.U.P. "Paolo Giaccone" di Palermo. L'imaging ottenuto da uno stesso paziente sarà suddiviso in due gruppi: immagini ottenute mediante metodica OCT (EG) ed immagini istopatologiche ottenute da campione bioptico (CG). L'arruolamento dei pazienti seguirà i criteri di inclusione ed esclusione presentati in tabella 1.

Criteria di Inclusione	Criteria di esclusione
Età maggiore di 18 anni	Sospetto o evidente stato di gravidanza o allattamento
Diagnosi clinica di OPMD e OSCC	Chemioterapia o radioterapia nell'ultimo mese
Accettato consenso informato per OCT pre-biopsia.	

Tabella 1: Criteri di inclusione ed esclusione

Metodi

Il progetto di ricerca verrà diviso in 3 work packages, integrati funzionalmente e cronologicamente. I work packages a loro volta saranno suddivisi in una o più task da eseguire.

Work Package 1: Coordinamento del progetto e continuo aggiornamento della letteratura

- **WP1/Task1:** Coordinamento del progetto di ricerca attraverso la redazione di diario giornaliero;
- **WP1/Task2:** Ricerca elettronica degli articoli scientifici effettuata tramite il database (e.g. Pubmed) al fine di aggiornare in modo continuo la raccolta della letteratura necessaria per la ricerca e finalizzata, inoltre, alla redazione di una revisione sistematica della letteratura sul potenziale dell'uso clinico diagnostico e di follow-up per OPMD e OSCC della metodica OCT secondo i seguenti criteri (Tabella 2).

Parole chiave	OCT, Optical Coherence Tomography, OPMD, OSCC, Oral epithelium, Istological alteration, Optical Biopsy, Oral diagnostics
Criteri di Inclusione	Studi sull'applicazione in medicina orale della metodica OCT su pazienti affetti da OPMD e OSCC.
Criteri di Esclusione	Studi sull'applicazione in ambiti diversi della medicina orale della metodica OCT

Tabella 2: Parole chiave e criteri inclusione/esclusione review della letteratura

Work Package 2: Reclutamento pazienti, campionamento delle immagini OCT e istopatologiche dei prelievi biotici

- **WP2/Task1:** Fase di reclutamento pazienti; i pazienti saranno reclutati consecutivamente presso il Dipartimento di DiChirOnS e presso il reparto di Medicina Orale dell'AOUP "Paolo Giaccone" Palermo dopo esser stati sottoposti ad esame clinico e contestuale report fotografico della zona di mucosa orale sottoposta ad indagine.

Tutti i dati demografici, quelli relativi ad abitudini voluttuarie ed alle caratteristiche cliniche e sede delle lesioni verranno raccolti in un data set. Per ogni paziente verrà registrata una diagnosi clinica di sospetto formulata durante la prima visita.

- **WP2/Task 2:** Fase di campionamento immagini OCT in vivo; ogni paziente reclutato con sospetto diagnostico clinico di OPMD e OSCC, previo consenso informato andrà incontro a valutazione mediante OCT precedentemente al campionamento biotico.

Le immagini OCT più significative tra quelle raccolte verranno selezionate retrospettivamente, affrancando l'operatore dall'influenza delle caratteristiche cliniche della lesione e soprattutto dalla diagnosi istopatologica che sarà associata. In considerazione di ciò, in base alle caratteristiche delle immagini OCT, l'operatore potrà formulare un'ulteriore diagnosi di sospetto.

Per ogni immagine OCT selezionata verranno analizzate le caratteristiche strutturali degli strati tissutali mediante :

- Descrizione dello stato della membrana basale e sue alterazioni;
- Descrizione dello stato della lamina propria e sue alterazioni;
- Descrizione dello strato epiteliale, anomalie e misurazione del suo spessore;
- Descrizione dello strato cellulare cheratinizzato, anomalie e misurazione del suo spessore.

- **WP2/Task 3:** Fase di campionamento biotico e analisi istopatologica; dopo l'esame OCT ogni paziente reclutato verrà sottoposto a biopsia incisionale o escissionale della lesione. I campioni biotici verranno processati di routine presso l'A.O.U.P. "Paolo Giaccone" di Palermo e le sezioni rappresentative delle lesioni analizzate verranno selezionate da un patologo e fotografate al microscopio ottico e registrate, in modo tale da poter confrontare le immagini ottenute mediante i due metodi.

Working Package 3: Analisi statistica dati

- **WP3/Task1:** Analisi dei dati raccolti di WP2 mediante pacchetto software di analisi statistica;
- **WP3/Task2:** Confronto dei risultati ottenuti nei WP2 e con i dati presenti in letteratura (WP1).

Punti di verifica Durante i 36 mesi del progetto si valuteranno i progressi della ricerca attraverso punti di verifica (Tabella 3). In seguito sono riportate le fasi del progetto di ricerca per semestri (Tabella 4).

Semestri di ricerca	Work Package	Punti di verifica
Fine I Semestre	WP1 WP2	- Controllo delle procedure e coordinamento da parte del tutor - Raccolta e analisi della letteratura scientifica - Predisposizione del protocollo operativo della ricerca (es. stesura consensi informati) e predisposizione database digitale e cartaceo per la raccolta dati - Reclutamento n. 25 pazienti - Fase di campionamento delle immagini dei gruppi EG e CG - Analisi immagini OCT ed istopatologiche
Fine II Semestre	WP1 WP2	- Controllo delle procedure e coordinamento da parte del tutor - Raccolta e analisi della letteratura scientifica - Reclutamento n. 25 pazienti - Fase di campionamento delle immagini dei gruppi EG e CG - Analisi immagini OCT ed istopatologiche
Fine III Semestre	WP1 WP2 WP3	- Controllo delle procedure e coordinamento da parte del tutor - Raccolta e analisi della letteratura scientifica - Reclutamento n. 25 pazienti - Fase di campionamento delle immagini dei gruppi EG e CG - Analisi immagini OCT ed istopatologiche - Analisi dei risultati a 12 mesi
Fine IV Semestre	WP1 WP2 WP3	- Controllo delle procedure e coordinamento da parte del tutor - Raccolta e analisi della letteratura scientifica - Reclutamento n. 25 pazienti - Fase di campionamento delle immagini dei gruppi EG e CG - Analisi immagini OCT ed istopatologiche - Valutazione di sviluppo degli obiettivi opzionali - Divulgazione dei risultati della ricerca a 12 mesi
Fine V Semestre	WP1 WP3	- Controllo delle procedure e coordinamento da parte del tutor - Raccolta e analisi della letteratura scientifica - Analisi dei risultati a 24 mesi - Valutazione di sviluppo degli obiettivi opzionali
Fine VI Semestre	WP1 WP3	- Controllo delle procedure e coordinamento da parte del tutor - Revisione sistematica della letteratura - Divulgazione dei risultati della ricerca a 24 mesi - Submission articoli scientifici

Tabella 3 – Punti di Verifica

	I semestre	II semestre	III semestre	IV semestre	V semestre	VI semestre
WP1						
WP2						
WP3						

Tabella 4 – Work Packages del progetto di ricerca per semestre.

Risultati attesi

Work Package	Risultati attesi
WP1	- Coordinamento del progetto di ricerca attraverso la redazione di diario giornaliero - Revisione sistematica della letteratura sui potenziali dell'applicazione dell'OCT nella diagnosi e nel follow-up di OPMD e OSCC
WP2	- Reclutamento di 100 pazienti per campionamento immagini del gruppo EG e CG - Analisi e confronto delle immagini del gruppo EG e CG

WP3	- Analisi statistica dei dati raccolti (WP2) e confronto con la revisione sistematica della letteratura - Validazione dell'applicazione in odontostomatologia della tecnica OCT
------------	--

Tabella 5: Risultati attesi dal progetto di ricerca

Ricadute

Il confronto tra le differenti figure professionali con diverse competenze scientifiche permetterà di raggiungere un punto di vista multidisciplinare di tutti i dati raccolti attraverso, offrendo possibili vari spunti di ampliamento e prosecuzione della ricerca anche in campi medici non strettamente limitati al cavo orale. Ci si auspica di poter dimostrare scientificamente che l'OCT costituisca un valido ausilio nell'identificazione delle alterazioni cito-architettrali degli strati tissutali interessati da OPMD e che l'impiego di questa tecnica possa contribuire alla diagnosi precoce di OSCC.

Prodotti del progetto di ricerca

Durante ed a conclusione del progetto verrà effettuata la divulgazione dei risultati della ricerca mediante presentazioni a congressi sia nazionali che internazionali in aggiunta alla pubblicazione di articoli su riviste scientifiche di rilevanza nazionale e internazionale.

3 - Bibliografia / References

- 1) Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, et al. Oral potentially malignant disorders: A consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis.* 2020;00:1– 19.
- 2) Iocca O, Sollecito TP, Alawi F, Weinstein GS, Newman JG, De Virgilio A, Di Maio P, Spriano G, Pardiñas López S, Shanti RM. Potentially malignant disorders of the oral cavity and oral dysplasia: A systematic review and meta-analysis of malignant transformation rate by subtype. *Head Neck.* 2020 Mar;42(3):539-555.
- 3) Machoy M, Seeliger J, Szyszka-Sommerfeld L, Koprowski R, Gedrange T, Woźniak K. The Use of Optical Coherence Tomography in Dental Diagnostics: A State-of-the-Art Review. *J Healthc Eng.* 2017;2017:7560645.
- 4) Trebing CT, Sen S, Rues S, Herpel C, Schöllhorn M, Lux CJ, Rammelsberg P, Schwindling FS. Non-invasive three-dimensional thickness analysis of oral epithelium based on optical coherence tomography-development and diagnostic performance. *Heliyon.* 2021 Apr 8;7(4):e06645.
- 5) Gentile E, Maio C, Romano A, Laino L, Lucchese A. The potential role of in vivo optical coherence tomography for evaluating oral soft tissue: A systematic review. *J Oral Pathol Med.* 2017 Nov;46(10):864-876.
- 6) Romano A, Di Stasio D, Petruzzi M, Fiori F, Lajolo C, Santarelli A, Lucchese A, Serpico R, Contaldo M. Noninvasive Imaging Methods to Improve the Diagnosis of Oral Carcinoma and Its Precursors: State of the Art and Proposal of a Three-Step Diagnostic Process. *Cancers (Basel).* 2021 Jun 8;13(12):2864.