

BIOPSIA NELLE LESIONI DEL CAVO ORALE: MEZZO PER LA CERTEZZA DELLA DIAGNOSI


BIOPSY IN ORAL LESIONS: TOOL FOR A CERTAIN DIAGNOSIS

G. Tenore¹, F. Carpenteri¹, R. Lo Giudice¹, C. Cavallini¹, G. Gaimari¹, G. Palaia¹

¹Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche e Maxillo Facciali, Facoltà di Medicina e Odontoiatria, Sapienza Università di Roma. Direttore: Prof. Antonella Polimeni

¹UOC di Clinica Odontostomatologica. Dirigente II Livello: Prof. Massimo De Luca

¹Master EMDOLA (European Master Degree in Oral Laser Applications): Direttore: Prof. Umberto Romeo

 ¹Department of Odontostomatologic and Maxillofacial Science, Faculty of Medicine and Odontology, "Sapienza" University of Rome. Director: Prof. Antonella Polimeni

¹UOC Odontostomatologic Clinic. Director 2nd level: Prof. Massimo De Luca

¹Master EMDOLA (European Master Degree in Oral Laser Applications): Director: Prof. Umberto Romeo

Citation: G. Tenore, F. Carpenteri, R. Lo Giudice, C. Cavallini, et al. Biopsia nelle lesioni del cavo orale: mezzo per la certezza della diagnosi. Prevent Res 2011; 1: 29-35

Parole chiave: biopsia orale, patologia orale, biopsia laser

 **Key words:** oral biopsy, oral pathology, laser biopsy

Abstract

Introduzione: La biopsia è una procedura diagnostica che consiste nel prelievo, da un organismo vivente, di un frammento tissutale, allo scopo di sottoporlo ad un esame istologico e, quindi, ottenere una diagnosi di certezza che possa o meno confermare il sospetto diagnostico clinico.

Obiettivi: Scopo del presente lavoro è stato quello di analizzare i margini dei frammenti tissutali prelevati mediante laser chirurgici, per valutare gli eventuali danni, dovuti all'effetto termico, presenti in sede epiteliale e connettivale.

Metodi: Sono stati esaminati 17 campioni tissutali prelevati in pazienti che, all'esame obiettivo, presentavano segni clinici di patologie orali che richiedevano un accertamento istologico. Le biopsie sono state eseguite con due diversi strumenti: Laser a diodi (Laser Innovation, Italia); Laser KTP (SmartLite, DEKA, Italia). I frammenti tissutali asportati dalla mucosa orale, sono stati conservati in formalina e, quindi, inviati all'anatomo patologo.

Risultati: La biopsia laser può essere eseguita con strumenti a diversa lunghezza d'onda, caratterizzati dalla capacità di interagire con i tessuti molli e di permettere il prelievo di campioni degli stessi. Grazie all'interazione laser-emoglobina, il campo operatorio risulterà essere esangue, permettendo una maggiore visibilità e consentendo di effettuare interventi

chirurgici in pazienti con turbe della coagulazione; in alcuni casi è possibile procedere senza l'utilizzo di anestetici locali, o comunque con un uso ridotto degli stessi.

Conclusioni: Lo studio dimostra che i margini incisionali di prelievi biotici realizzati nei tessuti molli del cavo orale con laser a diodi e KTP non presentano alterazioni tali da comprometterne l'esame istologico.



Abstract

Background: Biopsy is a diagnostic procedure that involves taking a tissue sample from a living organism in order to submit it to a histological examination to obtain a definitive diagnosis, which may or may not confirm the clinically suspected diagnosis.

Objectives: The purpose of this study was to analyze the margins of the tissue fragments taken by laser surgery, to assess the damage, caused by thermal effect, present in the epithelial and connective tissue.

Methods: 17 tissue samples have been examined, taken from patients that at objective examination showed clinical signs of oral disease that required histological verification. Biopsies were performed with two different instruments: diode laser (Laser Innovation, Italy) and KTP laser (SmartLite, DEKA, Italy). The tissue fragments excised from the buccal mucosa, were preserved in formalin and then sent to the anatomic pathologist.

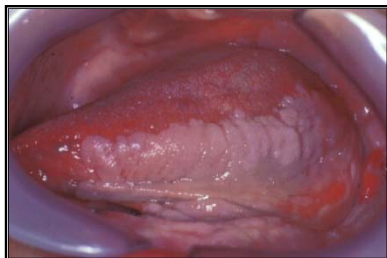
Results: Laser biopsy can be performed using instruments with different wavelengths, characterized by their capacity to interact with soft tissues and to allow sampling of the same tissues. Thanks to laser-hemoglobin interaction, the operative field was bloodless, allowing greater visibility and furthermore the performance of surgery in patients with coagulation disorders. Finally, in some cases it is possible to proceed without the use of local anesthetics, or with a reduced use of them.

Conclusions: The study shows that the incisional margins of biopsies carried out in the soft tissues of the oral cavity with KTP and diode laser do not present alterations that may compromise the histological examination.

Introduzione

Le lesioni dei tessuti molli del cavo orale, alla luce delle classificazioni più recenti, possono essere distinte in lesioni sospette e lesioni non sospette(1). Le lesioni sospette, comprendono le lesioni epiteliali potenzialmente maligne (LEPM) (Fig. 1), i carcinomi e i melanomi.

Fig. 1: Lesioni epiteliali potenzialmente maligne (LEPM) del cavo orale



Leucoplachia plicata della lingua



Cheilosi solare sul vermillion labiale



Forma reticolare di Lichen Planus Orale

Le lesioni non sospette comprendono le lesioni fibroepiteliali, le lesioni ad alta componente vascolare, le lesioni pigmentate, le lesioni virali, le lesioni delle ghiandole salivari minori, le lesioni neoplastiche clinicamente benigne. (Fig. 2)

Fig.2: Lesioni non sospette del cavo orale.



Iperplasia della mucosa gengivale che ricopre gli elementi dentari



Papilloma a cellule squamose



Mucocele

La biopsia, in genere, è indicata per:

- Diagnosticare lesioni neoplastiche, pre-neoplastiche ed altre patologie dei tessuti molli;
- Chiarire l'origine di tumefazioni persistenti non diagnosticabili clinicamente;
- Individuare l'origine di ulcerazioni che non guariscono entro due settimane;
- Definire la natura di lesioni che non regrediscono dopo terapia;
- Eliminare lesioni di dimensioni opportune e verificarne la natura;
- Porre diagnosi di malattia sistemica(2).

Normalmente, vale la regola che "Qualunque lesione che non migliori sensibilmente entro 14 giorni dalla rimozione dei possibili agenti irritanti, deve essere considerata potenzialmente maligna e sottoposta a biopsia ed esame istologico"(OMS).

Le biopsie possono essere classificate in base alla tecnica utilizzata, al materiale impiegato, al timing clinico, alla posizione della lesione. La scelta del tipo di biopsia da effettuare, dipende da diversi fattori riguardanti la lesione, quali: sede, dimensioni, rapporti con i tessuti circostanti, tipologia dei tessuti circostanti, sospetto diagnostico. Relativamente alla tecnica utilizzata, possiamo distinguerle in incisionali ed escissionali.

La biopsia escissionale consiste nella rimozione in toto della lesione, consentendo, allo stesso tempo, di effettuare sia una procedura diagnostica che terapeutica(2,3,4).

La nostra Scuola prevede l'esecuzione della biopsia escissionale nel caso di lesioni clinicamente benigne di diametro minore o uguale a 2 cm, in caso di lesioni peduncolate, o di lesioni clinicamente maligne di diametro inferiore a 1 cm. La biopsia incisionale prevede il prelievo di uno o più frammenti rappresentativi della lesione, unitamente ai tessuti adiacenti, profondi e circostanti ad essa e, solo dopo l'esame istologico, è possibile stabilire il trattamento della lesione residua.

Essa è indicata nel caso di lesioni maligne o sospette di diametro superiore a 1 cm, o nel caso di lesioni clinicamente benigne di diametro superiore a 2 cm, o localizzate in aree di particolare rilievo estetico o funzionale (lingua, palato molle, lingua, trigono retromolare), in cui, quindi, è meglio accertarsi della reale natura della lesione, prima di procedere alla rimozione in toto della stessa(2,3).

In letteratura esistono delle controversie relative alla possibilità che la biopsia incisionale effettuata su lesioni potenzialmente maligne possa aumentare il rischio di metastasi(2). Per quanto riguarda le tecniche biopiche incisionali, è di assoluta importanza la sede del prelievo.

La scelta di tale parametro è fondamentale ai fini della rappresentatività del campione nel corso dell'esame istologico.

E' una decisione legata all'aspetto clinico della lesione e all'esperienza del chirurgo, ma può essere guidata, ad esempio, da una precedente citologia esfoliativa o dall'utilizzo di un colorante vitale come il blu di toluidina(2,4). La colorazione con tale sostanza, consente di evidenziare displasie e piccole lesioni maligne che spesso non vengono individuate all'esame clinico.

Il blu di toluidina, infatti, colora le aree corrispondenti a maggiore attività mitotica delle cellule grazie alle sue proprietà spiccatamente acidofile. E' un test altamente sensibile, con possibilità di falsi positivi solo in caso di lesioni erosivo-ulcerative o cheratosiche(2)(Fig. 3).

Fig.3: Lesione leucoplasica linguale "mappata" con blu di toluidina.



Il frammento di tessuto prelevato, deve comprendere, quindi, nel caso in cui sia guidato dal giudizio del clinico, noduli, aree eritematose, ulcere ed erosioni; nel caso in cui sia guidato dai coloranti vitali, le aree che hanno trattenuto maggiormente il colore; nel caso in cui sia stato preceduto dalla citologia esfoliativa, le aree di prelievo delle cellule più alterate(1,5).

Obiettivi

È possibile realizzare prelievi di campioni istologici utilizzando due diverse procedure, che vedono impiegati, rispettivamente, il bisturi ed il laser. Le biopsie eseguite con il bisturi, vengono definite "a lama fredda". Tale metodica consente di ottenere un frammento tissutale caratterizzato dalla presenza di margini periincisionali netti, ben definiti,

privi di alterazioni strutturali; tuttavia, tale intervento chirurgico, necessita di anestesia e di sutura, e, il campo operatorio, sarà sempre sanguinante.

La biopsia laser può essere eseguita con strumenti a diversa lunghezza d'onda, caratterizzati dalla capacità di interagire con i tessuti molli e di permettere il prelievo di campioni degli stessi.

I prelievi bioptici realizzati con i laser presentano alcuni vantaggi rispetto a quelli realizzati con il bisturi: generalmente questi interventi non necessitano di anestesia, né di sutura e la guarigione del sito di prelievo, almeno nelle fasi iniziali, è più rapida(6). Tuttavia, a causa degli effetti termici del laser, i margini incisionali dei campioni tissutali risultano essere alterati, creando dubbi sulla reale efficacia di questa metodica.

I laser più comunemente utilizzati a questo scopo sono il laser a Diodi, il laser KTP, il laser CO2, il laser Nd:YAG, il laser Er:YAG. Dalla letteratura italiana ed internazionale emergono interessanti studi(7,8,9,10,11) riguardo le applicazioni laser nel campo della biopsia dei tessuti molli su lesioni clinicamente benigne, ma pochi di essi valutano gli effettivi danni causati da tali strumenti a livello dei margini incisionali dei frammenti tissutali. L'integrità dei margini periincisionali di un tessuto, infatti, è un parametro di fondamentale importanza nella valutazione di uno strumento utilizzato per effettuare biopsie.

Da essa può dipendere sia l'esito dell'esame istologico che la corretta guarigione del sito del prelievo. Dallo studio di Romeo et al.(10), nel quale vengono valutati gli effetti di laser Er,Cr:YSGG, Nd:YAG, e di due laser a diodi (di lunghezza d'onda rispettivamente pari a 808 nm e 980 nm) su lingua di maiale, emerge che tutti i laser esaminati possono essere utilizzati per effettuare prelievi bioptici.

Infatti, pur causando tutti delle lesioni a livello marginale del tessuto prelevato, nessuno di essi crea compromissione dell'esame istologico. In particolare, i laser che creano minor carbonizzazione marginale sono il diodi 808 nm pulsato, l'Er,Cr:YSGG, nei quali il danno stimato è inferiore al millimetro. Lo studio sottolinea, infine, la necessità di aumentare la distanza dei margini di incisione del prelievo bioptico di 2-3 mm rispetto alla lama fredda, per evitare che gli effetti termici del laser compromettano i risultati dell'esame istologico dello stesso.

Dallo studio presentato nell'articolo di Rizoiu et al(12), realizzato su conigli, emerge che non ci sono sostanziali differenze a livello istologico tra i margini incisionali nei frammenti bioptici escissi con il laser e quelli effettuati a lama fredda. Nell'articolo di Dalrymple e Russell(13), in cui viene presentato lo studio sulla valutazione dei margini periincisionali di prelievi bioptici incisionali ed escissionali eseguiti con laser su lesioni della cervice uterina, emerge che le alterazioni marginali sono in media di 0,3 millimetri.

Tuttavia, a causa dei danni termici, nel 12% dei casi l'esame istologico ha dato esito incerto. Dalle diverse pubblicazioni sull'argomento non emerge la possibilità di valutare, in vivo, le alterazioni marginali di campioni bioptici prelevati con il laser. Tale considerazione ci ha indicato la necessità di avviare uno studio relativo all'esame istologico, eseguito in vivo, dei margini periincisionali di frammenti tissutali ricavati mediante biopsia laser. Lo scopo del nostro studio è quello di confrontare la validità di campioni bioptici dei tessuti molli del cavo orale, prelevati mediante laser o bisturi.

Materiali e Metodi

Sono stati esaminati 17 campioni tissutali prelevati in pazienti che, all'esame obiettivo, presentavano segni clinici di patologie orali che richiedevano un accertamento istologico.

In alcuni casi, la lesione è stata trattata con una biopsia escissionale, che ha consentito di attuare, contemporaneamente, una procedura diagnostica e terapeutica. Nei casi in cui, per motivi legati alla sede o alla dimensione della lesione non è stato possibile rimuoverla in toto, si è optato per l'esecuzione di una biopsia incisionale, che ha consentito di effettuare l'esame istologico della stessa, e, in base all'esito di questo, decidere come trattarla. Tutti i prelievi tissutali sono stati eseguiti dallo stesso operatore, in maniera tale che, i risultati emersi nello studio siano privi della variabilità operatore-dipendente. E' chiaro, infatti, che l'esperienza e la conoscenza dei parametri degli strumenti laser e delle caratteristiche biologiche dei tessuti con cui entrano in contatto da parte di colui che esegue l'intervento, siano alla base della corretta esecuzione della biopsia e che da essi dipenda l'assenza di danno periincisionale.

Le biopsie sono state eseguite con due diversi strumenti: laser a diodi (Laser Innovation, Italia); laser KTP (SmartLite, DEKA, Italia). I frammenti tissutali asportati dalla mucosa orale, sono stati conservati in formalina e, quindi, inviati all'anatomo patologo. Successivamente sono stati colorati con ematossilina-eosina, fissati e tagliati seguendo le

metodiche tradizionali. I 17 prelievi sono giunti all'osservazione del medesimo specialista che, mediante microscopio ottico ha elaborato, per ciascuno di essi, la diagnosi istologica.

La presenza di alterazioni a livello dei margini periincisionali non ha creato particolari problemi nella valutazione istologica: per tutti i campioni è stato possibile ottenere una diagnosi di certezza. In seguito i frammenti tissutali sono stati nuovamente osservati al microscopio ottico, ad ingrandimento 5X e 10X.

Con l'ausilio di un appropriato software sono state valutate quantitativamente e qualitativamente le alterazioni marginali dovute all'azione termica dei laser sugli istologici. Dal punto di vista quantitativo è stata eseguita una misurazione in millimetri; per quanto riguarda l'aspetto qualitativo, è stato valutato il coinvolgimento del tessuto epiteliale e del connettivo nelle alterazioni termiche.

Risultati

L'uso del laser e le interazioni che esso può avere con i tessuti sono sostanzialmente regolati da due tipi di fattori. I fattori operatore-dipendente riguardano sia le modalità di utilizzo del laser, sia il tempo di applicazione, sia la scelta della distanza di taglio dai margini lesionali; i fattori operatore-indipendenti riguardano invece la lunghezza d'onda specifica del laser e le proprietà ottiche del tessuto.

I risultati ottenuti mostrano come il danno dovuto a carbonizzazione e/o coartazione sia più limitato in alcuni tipi di lesioni (mucocele) piuttosto che in altri (lichen planus), dimostrando come cellule in condizioni diverse rispondono in maniera diversa al laser. Bisogna sottolineare che l'uso del laser non è consigliabile per la realizzazione di biopsie su lesioni sospette.

Nella valutazione istologica di alterazioni tissutali che già clinicamente mostrano segni di malignità, è fondamentale, infatti, l'analisi dell'infiltrazione cellulare nei tessuti adiacenti.

Gli effetti termici del laser potrebbero compromettere la possibilità di realizzare un'accurata analisi dei margini della lesione, e quindi di stabilire le reali dimensioni del tumore; anche se, ampliando i margini incisionali di soli 1-2 millimetri, gli effetti termici del laser non creano alcun tipo di alterazione istologica nei tessuti prelevati.

Conclusioni

Nel nostro studio è emerso che la biopsia dei tessuti molli del cavo orale, effettuata con laser a diodi o KTP, non crea alterazioni marginali di rilevante importanza ai fini della diagnosi istologica.

Il laser, utilizzato da un odontoiatra esperto, consente di ottenere frammenti istologici con importanti vantaggi per l'operatore e il paziente.

Grazie all'interazione laser-emoglobina, il campo operatorio risulterà essere esangue, permettendo una maggiore visibilità e consentendo di effettuare interventi chirurgici in pazienti con turbe della coagulazione; in alcuni casi è possibile procedere senza l'utilizzo di anestetici locali, o comunque con un uso ridotto degli stessi; la guarigione post-operatoria risulterà essere più rapida, soprattutto nelle fasi iniziali.

Ampliando i margini incisionali di soli 1-2 millimetri, gli effetti termici del laser non creano alcun tipo di alterazione istologica nei tessuti prelevati. L'uso dei dispositivi laser nelle biopsie dei tessuti molli del cavo orale è una realtà che attualmente deve essere sempre considerata dagli odontoiatri come valida alternativa all'uso della lama fredda, comportando, rispetto a quest'ultima notevoli vantaggi.

Bibliografia

1. García-Peñín A. Biopsia en Cirugía Bucal. Donado M (eds). Cirugía Bucal: patología y técnica. Madrid: Masson; 1990.p.119-31.
2. Amparo Mota-Ramírez, Francisco Javier Silvestre, Juan Manuel Simó. Oral biopsy in dental practice. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2007 Nov 1.
3. R.J.Oliver, P.Sloan and M.N.Pemberton. Oral biopsies: methods and applications. British dental journal volume 196 no. 6 march 27 2004.

4. Romeo U, Libotte F, Palaia G et al. Histological in vitro evaluation of the effects of Er:YAG laser on oral soft tissues. *Lasers Med Sci*. 2011 Jul 28.
5. Lodi G, Sardella A, Demarosi F, et al. Oral biopsy. A prospective study on 286 consecutive procedures. *Minerva Stomatol*. 2007 May;56(5):241-51.
6. Fonseca, *Oral and maxillofacial surgery*, Saunders, 2000.
7. Bornstein Michael M; Winzap-Kälin Carmen; Cochran David L; Buser Daniel. The CO2 laser for excisional biopsies of oral lesions: a case series study. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* 2005;25(3):221-9.
8. Hazem Mohammad Saleh, Ali Mohammad Saafan. Excision Biopsy of Tongue Lesions by Diode Laser. *Photomedicine and Laser Surgery*. February 1, 2007, 25(1): 45-49. doi:10.1089/pho.2006.2014.
9. Antonio L.B. PINHEIRO, John W. FRAME. Surgical Management of Premalignant Lesions of the Oral Cavity with the CO2 Laser. *Braz Dent J* (1996) 7(2): 103-108 ISSN 0103-6440.
10. Umberto Romeo, Alessandro Del Vecchio, Francesca Ripari et al. Effects of Different Laser Devices on Oral Soft Tissues: In Vitro Experience. *J Oral Applications*, 2007.
11. Romeo U, Palaia G, Del Vecchio A et al. Effects of KTP laser on oral soft tissues. An in vitro study. *Lasers Med Sci*. 2010 Jul;25(4):539-43. Epub 2010 Feb 17.
12. Rizioiu IM, Eversole LR, Kimmel AI. Effects of an erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet laser on mucocutaneous soft tissues. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996 Oct;82(4):386-95.
13. Dalrymple & Russell Thermal artefact after diathermy loop excision and laser excision cone biopsy. *International Journal of Gynecological Cancer*. Volume 9 Issue 3, Pages 238 – 242. Published Online: 25 Dec 2001.

Autore di riferimento: Gaspare Palaia

"Sapienza" Università di Roma, Facoltà di Medicina e Odontoiatria, Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche e Maxillo-Facciali; UOC di Clinica Odontostomatologica. Dirigente di II livello: Prof. Massimo De Luca; Master EMDOLA (European Master Degree in Oral Laser Applications)
Viale Regina Elena, 287/A, Via Caserta, 6 00161 - Roma - Italia
email: gaspare.palaia@uniroma1.it



Corresponding author: Gaspare Palaia

"Sapienza" University of Rome, Faculty of Medicine and Odontology, Department of Odontostomatologic and Maxillofacial Science; UOC Odontostomatologic clinic. Director 2nd level: Prof. Massimo De Luca; Master EMDOLA (European Master Degree in Oral Laser Applications).
Viale Regina Elena, 287/A, Via Caserta, 6 00161 - Rome – Italy
email: gaspare.palaia@uniroma1.it