



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

Ментор:

Проф. д-р Даница Поповиќ Монеvска  
Стоматолошки факултет – Скопје

Членови на комисијата:

Проф. д-р Александар Грчев  
Стоматолошки факултет – Скопје

Проф. д-р Даница Поповиќ Монеvска  
Стоматолошки факултет – Скопје

Проф. д-р Алберто Бенедети  
Стоматолошки факултет – Скопје

Проф. д-р Мирјана Поповска  
Стоматолошки факултет – Скопје

Проф. д-р Лилјана Спасевска  
Медицински факултет – Скопје

Дата на одбрана

26.03.2020 година

Дата на промоција

Стоматолошки науки – Максилофацијална хирургија



# 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 досуптилни 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 толумидин 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 Velscore 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



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 was formed by 30 patients with a history of malignant oral disease.

The control group was 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 the 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 group, 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 загрозувани т.е. отежнати, па дури и оневозможени при појава на неоплазми во тој анатомски простор. Во лицевовличната 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 сквамозелуларниот карцином (ОСЦК) кој потекнува од оралната мукоза.

Сквамозелуларниот 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 плоскоклеточен карцином, во последните 20 години нема значајно подобрување на прогнозата, па петгодишното постоперативно преживување се движи од 40-50% од заболените<sup>1,2</sup>. 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 <sup>3,4</sup>. 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 номинира 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 <sup>5,6</sup>.

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 <sup>2</sup>.

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 <sup>7</sup>. 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 <sup>8</sup>. 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<sup>9,10</sup>.

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<sup>11</sup>. 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<sup>12</sup>. Факторите кои придонесуваат за овој пораст сеуште се непознати, но како суспектни етиолошки агенси 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<sup>13</sup>.

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 <sup>14</sup>.

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 <sup>15</sup>.

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 <sup>16</sup>.

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 <sup>17</sup>.

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 <sup>18-22</sup>. 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 <sup>23-24</sup>.

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 <sup>25,26</sup>. 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, вентралната или постеролатералната граница на јазикот) <sup>27,28</sup>.

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 <sup>28,29</sup>.

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 <sup>31-35</sup>. 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 <sup>36</sup>.

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 <sup>37</sup>. 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)<sup>38,39</sup>. 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)<sup>40</sup>.

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 карциноми<sup>41</sup>. 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 постапката<sup>42</sup>. 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 болеста<sup>43</sup>. 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



ХИПОТЕЗА



4

ЦЕЛ НА  
ТРУДОТ

# 5

## 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
- Доказана 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 нотирани 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 боене 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 екзаминација 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 десквamacија 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 документирани 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	+	<b>a</b> Вистински позитивни	<b>b</b> Лажно позитивни
	-	<b>c</b> Лажно негативни	<b>d</b> 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

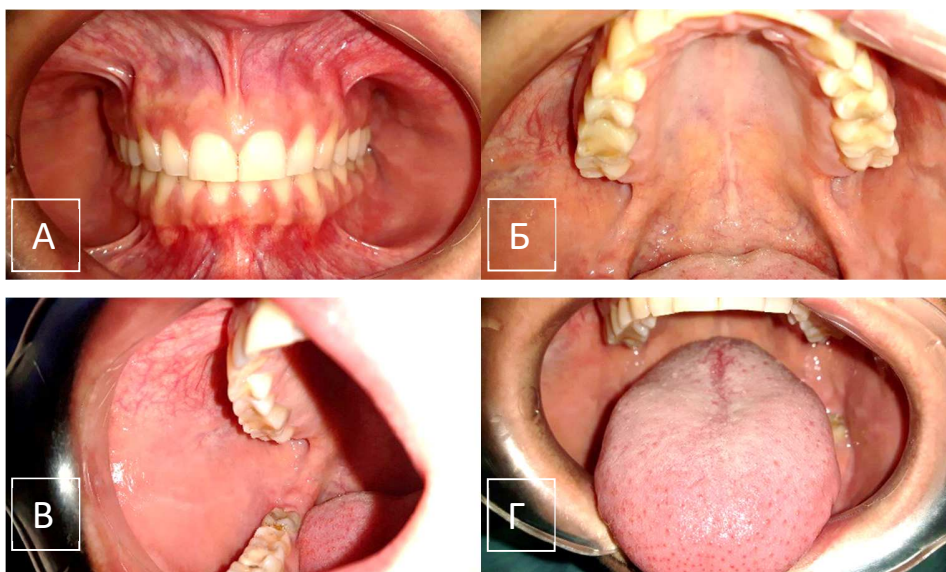
### 5.2.1. КОНВЕНЦИОНАЛЕН ИНТРАОРАЛЕН ПРЕГЛЕД (КОП)

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%<sup>56,57</sup>. 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 лезии<sup>58-60</sup>, 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 абнормалности<sup>154-156</sup>. 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 нотирани 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

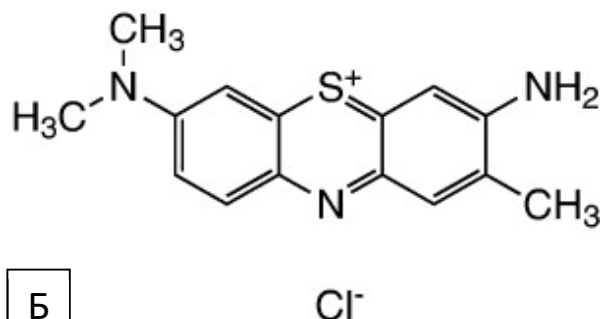
За конвенционалниот орален преглед се користеше светло од рефлекторот на стоматолошкиот стол (15V / 200W, OSRAM, OSRAM AG, Минхен, Баварија, Германија). Регистрацијата на суспектните или клинички абнормални лезии беа забележани и фотографирани со дигитална рефлексна камера (Pentax \* ist DS, Pentax Imaging 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)

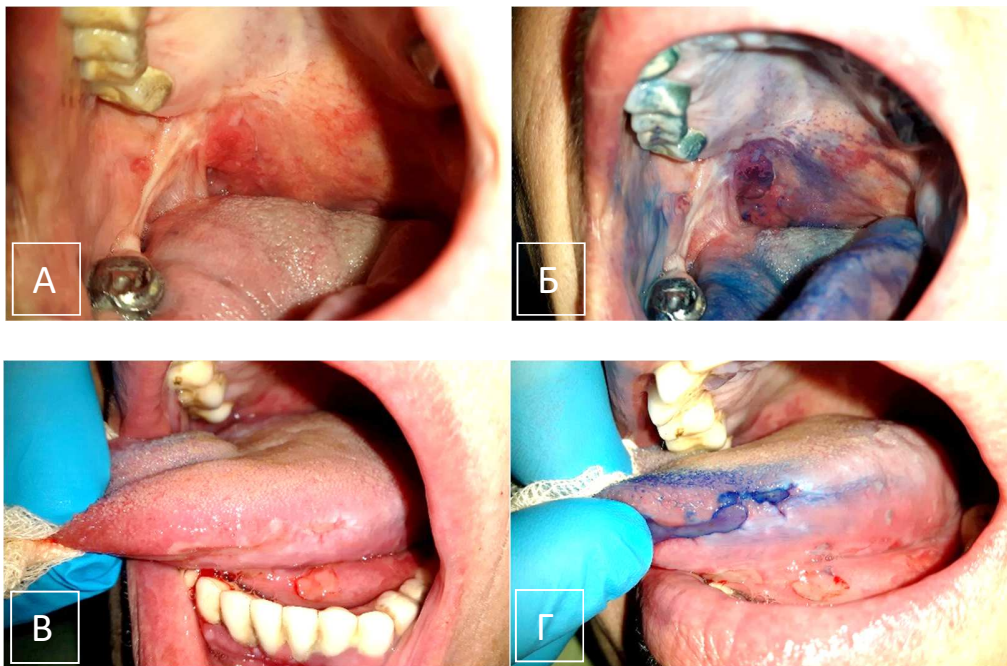
Растворот на толуидин сино кој го користевме во нашиот протокол при изработка на нашето истражување е изомер на толуидин во обликот орто-толуидин и по потекло е од Монтана, САД. Хемиската формула му е C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N и познат е уште и како о-метиланилин.

### Изомер на толуидинот

Тривијално име	o-toluidin
Друго име	o-metilanilin
Хемиско име	2-metilanilin
Хемиска формула	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> N
Молекулска маса	107.17 g/mol
Температура на стаклена транзиција	189 K <sup>[2]</sup>
Растворливост во вода	1,59%
Точка на топење	-23 °C
Точка на вриење	199–200 °C
Густина	1.00 g/cm <sup>3</sup>
Магнетна подложност	76.0 x 10 <sup>-6</sup> cm <sup>3</sup> /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 <sup>75</sup>.

Во применетата методологија толуидин синото го применувавме со цел да ги обои оралните лезии, а е корисен како дополние на клиничката експлорација за идентификација на потенцијално премалигните лезии. Генерално, сензитивноста на боењето со толуидинско сино за детекција на оралните карциноми се движи од 78% до 100%, а специфичноста од 31% до 100%.

Генерално, боењето со толуидинско сино е користено за откривање на оралните карциноми, кој е позитивен кај само 50% од лезиите со дисплазија. Можно е толуидинот 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 толуидин 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 толуидинско 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 орофаринксот 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.

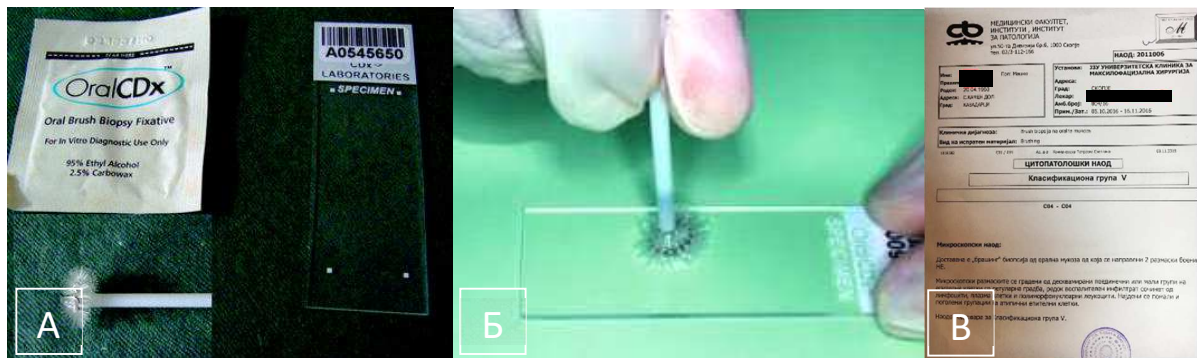
Brush биопсијата (CDx Laboratories, Suffren, NY) била воведена како потенцијална алатка за откривање на случаи со карциноми во 1999 година. Нејзината намена била испитување на клинички лезии кои инаку не би биле подложени на биопсија, бидејќи нивото на сомневање за карцином, врз основа на клиничките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

#### 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 експитација. 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 експитација 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**

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

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

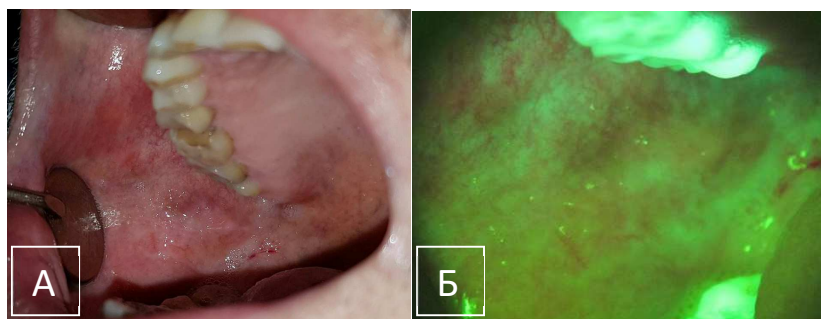


Слика 5. Конфигурација на VELscope® системот и начин на негова примена (А и Б)



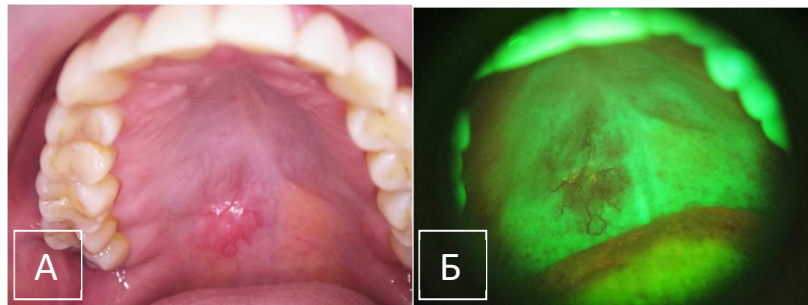
Флуоресцентната спектроскопија вклучува експозиција на ткивата и нивна екситација под светлина со различна бранова должина, при што може да се идентификуваат суптилни разлики помеѓу нормалните и абнормалните ткива. Спротивно на тоа, флуоресцентниот имиџинг предвидува изложување на ткивата на светлина со специфична бранова должина, што резултира со автофлуоресценција на клеточните флуорофори по нивна екситација. 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.

VELscore® 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 ареи во споредба со околното здраво ткиво.



Слика 6. Негативен наод при скрининг со VELscore® (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 (А 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, orsein=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 течности 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 $\mu$  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 анализирниот 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 земени биоптични примероци и нивна локација се одлука на терапевтот врз основа на клиничкиот изглед на лезијата. Доколку лезијата демострира 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).

Скалпеловата 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 еозинифилна 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. Водњанска бр. 34 1000 Скопје Македонија телефон: 02 31 70 324 веб: www.patlab.mk

Име: [REDACTED] Пол: Ж  
 Презим: [REDACTED]  
 Роден: 27/05/1951  
 Адреса: Косов Базар бр 64  
 Град: 2420 - Радовиш

Установа: Хируршка клиника  
 Адреса: ул. Водњанска бр. 34  
 Град: 1000 - Скопје  
 Лекар: [REDACTED]  
 Број: [REDACTED]  
 Примено: 29.12.2016

Клиничка дијагноза: 3 - TU MALIGNUM LINGVAE LATERIS SINISTRI  
 Вид на испратен материјал: 7 - Surgical biopsy - Exfoliat  
 INCISIONA BIOPSIJA ZA HP ANALIZA

**ХИСТОПАТОЛОШКИ НАОД**

**CARCINOMA PLANOCELLULARE INV**  
 (141201 - 807300 - □)

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

Микроскопски наод :  
 микроскопскиот преглед на исечоците од двата доставени биопсични материјални фрагменти во првиот флакон, на едната површина е покриен со јако кератинозна маса. Масата на ДВАТА фрагменти од двата флакона е сочинета од плоскоклеточен карцином со карактеристична кератинозна маса. Во центарот на првиот фрагмент, во длабочина, неопластична маса се гледа крутен ацидофилен нуклеолус и обемна еозинофилна маса. Во центарот на вториот фрагмент, во длабочина, неопластична маса се гледа крутен ацидофилен нуклеолус и обемна еозинофилна маса. Во центарот на првиот фрагмент, во длабочина, неопластична маса се гледа крутен ацидофилен нуклеолус и обемна еозинофилна маса. Во центарот на вториот фрагмент, во длабочина, неопластична маса се гледа крутен ацидофилен нуклеолус и обемна еозинофилна маса.

**А**

Услуга: Хируршка клиника МАКСИМОВАЦАСНА  
 Адреса: ул. Водњанска бр. 34  
 Град: 1000 - Скопје  
 Примено: 10.12.2016

Клиничка дијагноза: 1 - Ту тусовае лангва  
 Вид на испратен материјал: 1 - Ту тусовае лангва  
 2 - Ту тусовае лангва

**ХИСТОПАТОЛОШКИ НАОД**

**STOMATITIS CHRONICA GRAVIS CUM HYPERPLASIA EPITHELLI ORIS PSEUDOCARCINOMATOSA.**  
 (145900 - 430000 - □)

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

Микроскопски наод :  
 микроскопскиот преглед на исечоците од двата доставени биопсични материјални фрагменти во првиот флакон, на едната површина е покриен со јако кератинозна маса. Масата на ДВАТА фрагменти од двата флакона е сочинета од плоскоклеточен карцином со карактеристична кератинозна маса. Во центарот на првиот фрагмент, во длабочина, неопластична маса се гледа крутен ацидофилен нуклеолус и обемна еозинофилна маса. Во центарот на вториот фрагмент, во длабочина, неопластична маса се гледа крутен ацидофилен нуклеолус и обемна еозинофилна маса.

**Б**

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



ДИСКУСИЈА





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 боеење 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 боене 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 боене 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 боене 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.

VELscore 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.

9

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](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](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](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



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 oral cavity: 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/](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, Kiemeneij 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 toloum 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 toloum 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](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](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, Glenn 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: 10.101/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, Glennly 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, Kallarakal 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. 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, Wyszńska-Pawełec 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