

Forschung · Wissenschaft Recherche · Science

Publisher Herausgeber Editeur

Schweizerische Zahnärzte-
Gesellschaft SSO
Société Suisse
d'Odonto-Stomatologie
CH-3000 Bern 7

Editor-in-chief Chefredaktor Rédacteur en chef

Adrian Lussi, Bern

Editors Redaktoren Rédacteurs

Urs Belser, Genève
Andreas Filippi, Basel
Rudolf Gmür, Zürich

Assistant Editors Redaktions-Assistenten Rédacteurs assistants

Brigitte Zimmerli, Bern
Klaus Neuhaus, Bern

Adresse der wissenschaftlichen Redaktion

Prof. Adrian Lussi
Klinik für Zahnerhaltung,
Präventiv- und Kinder-
zahnmedizin
Freiburgstr. 7, 3010 Bern

Advisory board Gutachtergremium Comité de lecture

T. Attin, Zürich
P. Baehni, Genève
J.-P. Bernard, Genève
C.E. Besimo, Basel
M.M. Bornstein, Bern
D. Bosshardt, Bern
S. Bouillaguet, Genève
U. Brägger, Bern
W. Buchalla, Zürich
D. Buser, Bern
M. Cattani, Genève
B. Ciucchi, Genève
K. Dula, Bern
D. Ettl, Zürich
G. Eylich, Zürich
J. Fischer, Zürich
L.M. Gallo, Zürich
U. Gebauer, Bern
R. Glauser, Zürich
W. Gnoinski, Zürich
T. Göhring, Zürich

K.W. Grätz, Zürich
Ch. Hämmerle, Zürich
N. Hardt, Luzern
T. Imfeld, Zürich
K.H. Jäger, Basel
J.-P. Joho, Genève
R. Jung, Zürich
S. Kiliaridis, Genève
I. Krejci, Genève
J.Th. Lambrecht, Basel
N.P. Lang, Bern
T. Lombardi, Genève
H.U. Luder, Zürich
H. Lüthy, Neuchâtel
C. Marinello, Basel
G. Menghini, Zürich
R. Mericske-Stern, Bern
J. Meyer, Basel
J.-M. Meyer, Chêne-Bougeries
T. Mitsiadis, Zürich
A. Mombelli, Genève
W. Mörmann, Zürich
F. Müller, Genève
S. Palla, Zürich
S. Paul, Zürich

T. Peltomäki, Zürich
M. Perrier, Lausanne
Ch. Ramseier, Bern
M. Richter, Genève
H.F. Sailer, Zürich
G. Salvi, Bern
J. Samson, Genève
U.P. Saxer, Zürich
J.-P. Schatz, Genève
S. Scherrer, Genève
P.R. Schmidlin, Zürich
P. Schüpbach, Horgen
J. Türp, Basel
H. van Waas, Zürich
P. Velvart, Zürich
T. von Arx, Bern
T. Waltimo, Basel
F. Weber, Zürich
R. Weiger, Basel
A. Wichelhaus, Basel
A. Wiskott, Genève
M. Zehnder, Zürich
H.F. Zeilhofer, Basel
N.U. Zitzmann, Basel

VALÉRIE G. A. SUTER¹
RETO MORGER¹
HANS JÖRG ALTERMATT²
PETER SPIELER³
MICHAEL M. BORNSTEIN¹

¹ Klinik für Oralchirurgie und Stomatologie, Zahnmedizinische Kliniken der Universität Bern
² Pathologie Länggasse, Bern
³ Institut für Pathologie/Abteilung für Zytodiagnostik, Kantonsspital St. Gallen

Korrespondenzadresse

Dr. med. dent.

Michael M. Bornstein, OA
Klinik für Oralchirurgie und Stomatologie
Zahnmedizinische Kliniken der Universität Bern

Freiburgstrasse 7, 3010 Bern

Tel. 031 632 25 45/66

Fax 031 632 98 84

E-Mail:

michael.bornstein@zmk.unibe.ch

Schweiz Monatsschr Zahnmed 118: 510–518 (2008)

Zur Veröffentlichung angenommen:

1. März 2008

Erythroplakie und Erythroleukoplakie: Rote und rot-weiße Risikoläsionen der Mundhöhlenschleimhaut

Teil 2: Aktuelle Aspekte zur Zytodiagnostik, Pathogenese, Therapie und Prognose

Schlüsselwörter: Erythroplakie, Erythroleukoplakie, epitheliale Präkursorläsionen, präkanzeröse Läsionen, Zytopathologie, Therapie, Prognose

Zusammenfassung Im vorliegenden zweiten Teil der Übersichtsarbeit werden anhand der aktuellen Literatur die Zytodiagnostik, Pathogenese, Therapie, Rezidivneigung und Transformationsrate der oralen Erythroplakie (OE) und der oralen Erythroleukoplakie (OEL) vorgestellt und diskutiert. Die orale Zytopathologie, evtl. ergänzt durch die DNA-Bildzytometrie, kann bei der Diagnostik der OE und OEL neben der konventionellen Histopathologie wertvolle Informationen liefern, diese aber nicht ersetzen. Zahlreiche molekulargenetische Veränderungen wurden bei präkanzerösen

Läsionen untersucht, um Aussagen zur Prognose einer Läsion zu erhalten. Es gibt aber weiterhin noch keinen Evidenz-basierten Parameter, welcher eine maligne Transformation sicher voraussagen könnte. Bei geplanter Exzision einer OE oder OEL erfolgt diese mit einem Sicherheitsabstand mit dem CO₂-Laser oder mit dem Skalpell. Angaben zu Rezidiven und Transformationsraten beruhen bei der OE auf Einzelfällen. Bei der OEL wurde im Vergleich zur Leukoplakie eine deutlich höhere Transformationsrate festgestellt.

Einleitung

Im ersten Teil der vorliegenden zweiteiligen Übersichtsarbeit wurde anhand der aktuellen Literatur auf die Definitionen der oralen Erythroplakie (OE) und der oralen Erythroleukoplakie (OEL), epidemiologische Daten und ätiologische Faktoren eingegangen (SUTER ET AL. 2008). Die wichtigsten Differentialdiagnosen wurden beschrieben, da die OE und OEL im Prinzip klinische Ausschlussdiagnosen sind. Abschliessend wurde auch die Bedeutung der histopathologischen Untersuchung zur Bestimmung des epithelialen Dysplasiegrades erläutert.

Im vorliegenden zweiten Teil wird der aktuelle Stand der Zytodiagnostik und der molekularen Gewebemarker diskutiert. Auch soll auf die Frage eingegangen werden, weshalb die OE klinisch rot erscheint und ob *Candida albicans* oder das humane Papillomavirus (HPV) eine eigene Rolle in der Pathogenese und malignen Transformation spielen. Abschliessend werden aktuelle Therapiekonzepte, Rezidiv- und Transformationsraten bei der OE und OEL dargelegt und besprochen.

Für beide Teile der Übersichtsarbeit wurde zur Literaturbeschaffung folgende Suchstrategie verfolgt: Der Suchalgorhythmus «(oral erythroplakia) AND/OR (oral erythroleukoplakia) AND/OR (speckled leukoplakia)» wurde im PubMed (URL: www.pubmed.gov) ohne Einschränkung durch das Publikationsdatum eingegeben, und in der Cochrane Library (URL: www.cochrane.org) wurde nach systematischen Übersichtsarbeiten zum Thema gesucht. Eine Handsuche der Fachzeitschriften «Journal of Oral Pathology & Medicine» (ab 1989), «Oral Diseases» (ab 1995) und der «Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie» (ab 1997) komplettierte die Literatursuche.

Erweiterte Zytodiagnostik und molekulare Gewebemarker

Die Zytodiagnostik wird in der Gynäkologie routinemässig nach der Methodik von Papanicolaou für das Screening von dysplastischen Veränderungen der Zervixschleimhaut eingesetzt (PETIGNAT ET AL. 2006). Dabei wird der Abstrich in der

sogenannten Transformationszone entnommen, welche eine Umwandlungszone mit stattfindenden metaplastischen Reifungsprozessen zwischen Drüsen- und Zylinderepithel ist (MEHLHORN ET AL. 2004). Eine Übertragung der Methodik auf die Mundschleimhaut ist somit nur bedingt möglich.

In der Mundhöhle wird die orale Zytologie zur Abklärung von verdächtigen präkanzerösen oder kanzerösen Läsionen angewandt, wobei sie als ergänzendes – und nicht als alleiniges – Verfahren im Zusammenspiel mit der Histopathologie zu betrachten ist (HULLMANN ET AL. 2007). Bei der Bürstenbiopsie werden mittels spezieller Bürsten mit rigiden Borsten Zellen bis in tiefere Schichten des Epithels entnommen, auf einen Objektträger übertragen und mit Alkohol fixiert. Es wird kontrovers diskutiert, ob diese repräsentative Zellentnahme nur mit bestimmten Bürsten möglich sei (BURKHARDT ET AL. 2006). In der konventionellen Zytologie wird das Zellmaterial angefärbt und lichtmikroskopisch untersucht, wobei nach Zelltypen gesucht wird (Abb. 1a–c). Die Einteilung bzw. Klassifikation des entnommenen Zellmaterials auf evtl. vorhandene Zelltypen/-dysplasien wird in Tabelle I dargestellt (modifiziert nach BÖCKING 1998).

Neben der klassischen zytopathologischen Untersuchung können am Zellausstrich nach erfolgter Bürstenbiopsie verschiedene zusätzliche analytische Verfahren durchgeführt werden. Bei der *DNA-Bildzytometrie (DNA-image cytometry)* wird mittels eines DNA-spezifischen Farbstoffes (Feulgen-Farbstoff nach FEULGEN & ROSSENBECK 1924) die Kern-DNA der Zellen

Tab. I Einteilung der Befunde im Zellausstrich in der Zytopathologie (modifiziert nach BÖCKING 1998)

Nachweisbarkeit von dysplastischen Zellen im Präparat	Malignität
Dysplastische Zellen nicht nachweisbar	Sicher negativ
Dysplastische Zellen nicht sicher auszuschließen	Zweifelhaft
Dysplastische Zellen wahrscheinlich	Dringender Verdacht
Dysplastische Zellen nachweisbar	Sicher positiv

angefärbt und mittels photometrischer Messung und PC-basiertem Analysesystem quantifiziert (REMMERBACH ET AL. 2001, REMMERBACH ET AL. 2007). Dabei werden die gewonnenen Daten mit dem DNA-Gehalt von Zellen mit normaler, diploider DNA verglichen. Deren DNA-Gehalt wird in der Dimension c (= *content*) angegeben, d.h. gesunde Zellen haben eine Stammlinie im Bereich von 1.80c und 2.20c. Als DNA-Aneuploidie bezeichnet man DNA-Verteilungen von Zellpopulationen, die sich statistisch signifikant von denen normaler (ruhender, proliferierender oder polyploider) Zellen unterscheiden, d.h. wenn ihr Modalwert 10% vom normalen 2c-Gehalt abweicht oder Zellen mit einem DNA-Gehalt grösser als 9c vorkommen (REMMERBACH ET AL. 2004) (Abb. 2). Bei kombinierter Methodik (konventionelle Zytopathologie und DNA-Bildzytometrie) werden eine Sensitivität (= Richtigpositiv-Rate) für das Erkennen von malignen Zellen von 97,8% (REMMERBACH ET AL. 2004) bis

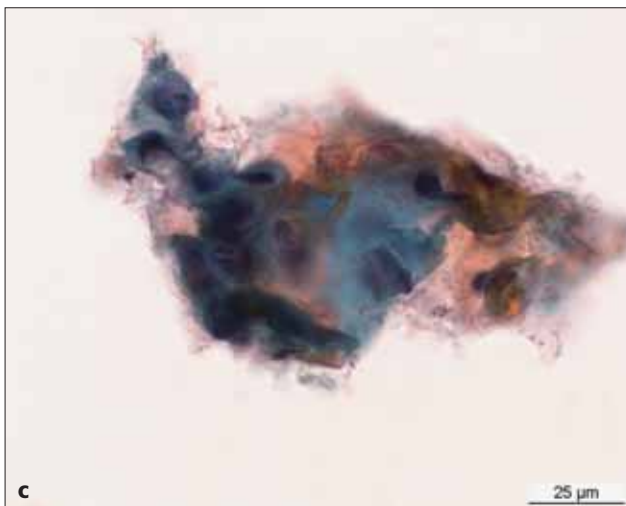
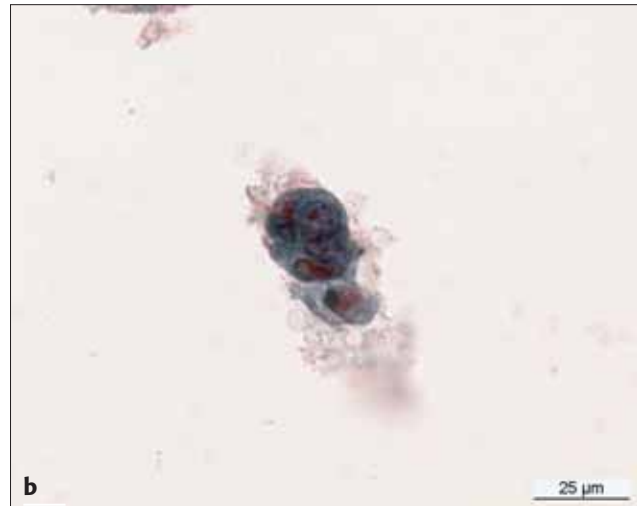
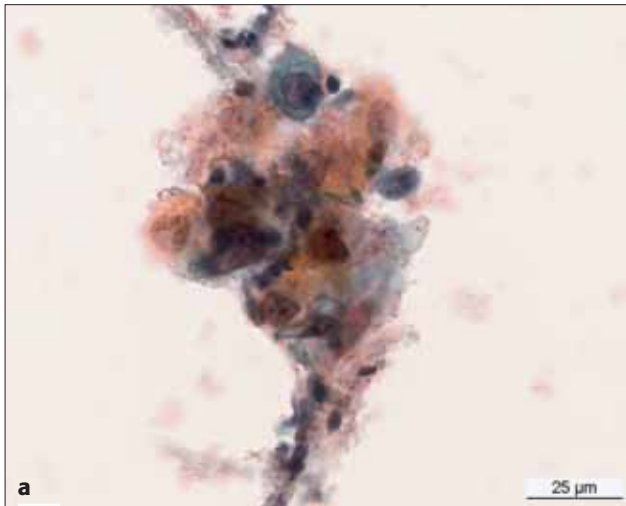


Abb. 1a–c Exfoliative Zytologie (vom gleichen Patienten wie Abb. 3) als ergänzende Diagnostik zur Histopathologie: Bürstenbiopsie aus dem Trigonum retromolare rechts sowie vom Alveolarkamm Regio 46–48.

a: Schwere Dysplasie von Plattenepithelzellen unterschiedlichen Reifegrades (Papanicolaou-Färbung).

b: Schwere Dysplasie (Hyperchromasie, Kernkerbungen, polymorphe Nukleolen) von unreifen Plattenepithelzellen (schmales zyanophiles Zytoplasma) in kugeligem Verband gelagert (Papanicolaou-Färbung).

c: Schwere Dysplasie von Plattenepithelzellen (polymorphe, unterschiedlich grosse Kerne, z.T. Kernüberlappungen) unterschiedlichen Reifegrades (verhorntes und nicht verhorntes Zytoplasma; Papanicolaou-Färbung).

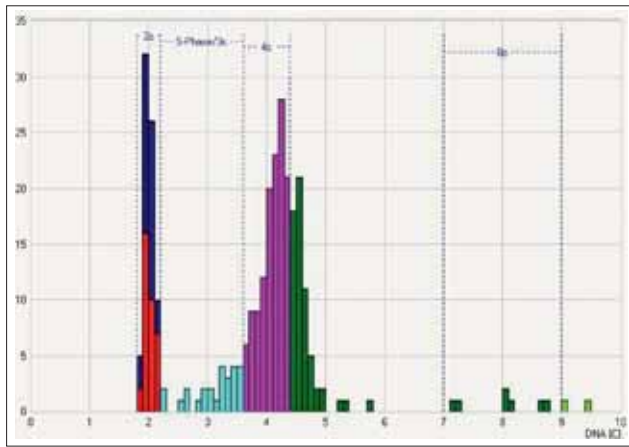


Abb. 2 DNA-Bildzytometrie (gleicher Patient wie Abb. 1a-c und 3). Es liegt ein aneuploides DNA-Verteilungsmuster vor mit einer Stammlinie im triploiden Bereich und Zellen mit einem DNA-Gehalt über 9c.

100% (MARAKI ET AL. 2004) und eine Spezifität (= Richtignegativ-Rate) für die korrekte Diagnose nicht neoplastischer bzw. gesunder Zellen von 97,4% (MARAKI ET AL. 2004) bis 100% (REMMERBACH ET AL. 2004) angegeben. Bei der Studie aus der Gruppe von Maraki (MARAKI ET AL. 2004) wurden 98 Mukosalläsionen mittels Zytopathologie und DNA-Bildzytometrie untersucht, davon drei OE. Bei der DNA-Bildzytometrie zeigten die Zellproben der drei OE jeweils eine DNA-Aneuploidie.

Dieselbe Arbeitsgruppe (MARAKI ET AL. 2006) publizierte einen Fallbericht eines Patienten mit einer OE am Zungenrand, bei der die Zytodiagnostik eine schwere Dysplasie ergab und auch eine DNA-Aneuploidie vorhanden war. Die histopathologische Untersuchung zeigte eine milde Dysplasie. Knapp 32 Monate später, der Patient hatte sich mittlerweile einer Lebertransplantation unterzogen, zeigte sich der gleiche zytologische Befund, doch histopathologisch wurde ein *Carcinoma in situ* nachgewiesen. Die Autoren erklärten die Progression hin zum Malignom durch die Immunsuppression. Zudem empfahlen sie bei vorhandener DNA-Aneuploidie die fraglichen Läsionen durch eine Exzisionsbiopsie zu diagnostizieren bzw. zu therapieren.

An der Klinik für Oralchirurgie und Stomatologie der Universität Bern wird die zytologische Diagnostik mittels Bürstenbiopsie – in Kombination mit der DNA-Bildzytometrie nur bei Verdacht auf Zellatypien – als diagnostische Erweiterung zur klinischen und konventionellen histopathologischen Untersuchung eingesetzt. Ab einem histopathologisch als milde eingestuftem Dysplasiegrad mit bestehender DNA-Aneuploidie wird dem Patienten die Exzision der gesamten Läsion empfohlen. Ein solcher Befund könnte nämlich prognostisch auf eine maligne Transformation, im Sinne einer Epitheldysplasie mit hohem Progressionspotenzial, hindeuten (HALBRITTER ET AL. 2007).

Die DNA-Aneuploidie als prognostischer Marker der malignen Transformation einer oralen Leukoplakie, OEL oder OE kam nach initialer Euphorie unter Oralpathologen und -medizinern zu Beginn dieses Jahrtausends in Verruf, da zwei grundlegende und hochrangig publizierte Arbeiten zu diesem Thema von Jon Sudbø wegen Datenfälschung zurückgezogen werden mussten (CURFMANN ET AL. 2006). Auch bei einer weiteren Publikation der Gruppe um Sudbø, welche 57 Biopsien von OE bezüglich aberranter DNA-Expression untersuchte und einen klar prognostischen Aussagewert zur Karzinomentwicklung bei Genomaberration ergab, müssen die Daten entsprechend dem Hinweis des Journals «erneut überprüft werden» (SUDBØ ET AL. 2002).

Ein modifiziertes Verfahren der zytopathologischen Auswertung von Bürstenbiopsiematerial ist die computerunterstützte Bildanalyse *OralCDx* (CDx Laboratories, Inc., Suffern, NY, USA), welche lizenzgebunden ist. Das gefärbte Zellmaterial wird durch das OralCDx Computersystem gescannt, wobei Zellen mit abnormaler Morphologie oder Keratinisierung vom System aussortiert und einem Zytopathologen am Bildschirm präsentiert werden. Dieser befundet die selektionierten Zellen und teilt die Proben in «negativ», «atypisch», «positiv» oder «unzureichend» ein (SCIUBBA 1999). Bei «positivem» (für Dysplasie oder Karzinom) und «atypischem» Befund wird die Inzisionsbiopsie empfohlen. Beim Ergebnis «negativ» (für epitheliale Atypien) werden regelmässige klinische Nachkontrollen und bei «unzureichend» die Wiederholung der Bürstenbiopsie empfohlen (SCIUBBA 1999, BURKHARDT ET AL. 2006). Die erste multizentrische Studie (SCIUBBA 1999), welche die Sensitivität und Spezifität des OralCDx-Verfahrens an insgesamt 945 Patienten in den USA untersuchte, ergab eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 93%, wobei aber lediglich 298 klinisch suspektae Läsionen auch histopathologisch untersucht wurden. Weitere Studien ergaben eine deutlich (71,4%) (POATE ET AL. 2004) bzw. eine etwas (92,3%) (SCHEIFELE ET AL. 2004) niedrigere Sensitivität und eine ähnliche (94,3%) (SCHEIFELE ET AL. 2004) bzw. deutlich niedrigere (32%) (POATE ET AL. 2004) Spezifität. Es gibt aber bisher keine Studie, welche die OralCDx-Methode ausschliesslich bei der OE untersuchte.

Die computerunterstützte Bildanalyse *OralCDx* kann als eine Art «Screening» zur Indikationsstellung einer Inzisionsbiopsie angesehen werden. Sie ersetzt aber niemals die genaue klinische Inspektion der Mundhöhlenschleimhaut durch einen stomatologisch geschulten (Zahn-)Arzt und die klassische histopathologische Untersuchung. Auch sollte auf regelmässige klinische Nachkontrollen bei suspekten Läsionen nicht verzichtet werden, auch wenn der Befund zytopathologisch negativ war.

Die Wissenschaft sucht nach wie vor nach einem Marker, welcher die Transformation zu einem Plattenepithelkarzinom relativ verlässlich voraussagen könnte und der an Zellen aus dem Bürstenbiopsiematerial, also mittels einer wenig-invasiven Methode, bestimmbar wäre. Am vierten Meeting «World Workshop on Oral Medicine» (WWOM IV) wurde ein Konsensuspapier zur Pathophysiologie sowie der zukünftigen Richtung des klinischen Managements von Patienten mit oralen epithelialen Dysplasien erarbeitet (BRENNAN ET AL. 2007). Eine ganze Reihe von molekularen Veränderungen, welche mit der Progression einer Dysplasie zu einem Plattenepithelkarzinom in Verbindung stehen, wurde aufgeführt: Dazu gehören ein Verlust der Heterozygotität (*loss of heterozygosity* = LOH), die Dysregulation der Apoptose, eine aberrante DNA-Expression und eine veränderte Expression verschiedener Gewebemarker (Matrixmetalloproteinasen, vaskuläre endotheliale Faktoren, Zytokeratine, Integrine, Rezeptoren von Wachstumsfaktoren und von Granulozyten-Koloniestimulationsfaktoren, Zellzyklusregulatoren, Tumorsuppressoren wie das p53). Es konnte aber kein singulärer Marker bzw. Mechanismus identifiziert werden, welcher sich als primärer Faktor für die Progredienz einer Dysplasie zum Plattenepithelkarzinom verantwortlich zeichnet.

Es gibt zahlreiche Studien, welche molekulargenetische Veränderungen von prämaligen Läsionen beschrieben, aber kaum solche, welche spezifisch OE untersuchten (MITHANI ET AL. 2007). Eine Studie um die Gruppe von QIN ET AL. (1999) untersuchte das p53-Tumorsuppressorgen. Bei 46% der untersuchten OE (11 von insgesamt 24) wurden p53-Mutationen festgestellt, welche zu einer geänderten p53-Proteinsequenz

fürten. Mittels Bürstenbiopsie konnten beim so entnommenen Zellmaterial zwar p53-Mutationen bestimmt werden. Die prognostische Aussagekraft dieses Parameters bedarf jedoch noch weiterer Daten aus prospektiven klinischen Studien (WARNAKULASURIYA 2000, HULLMANN ET AL. 2007).

Eine weitere Studie analysierte das allelische Ungleichgewicht (*allelic imbalance, AI*) verschiedener Chromosomenloci und die LOH bei OE und oralen Leukoplakien mit histopathologischen Dysplasien (PARTRIDGE ET AL. 1998). Dabei erwies sich die Wahrscheinlichkeit, ein Plattenepithelkarzinom zu entwickeln, bei einem allelischen Ungleichgewicht an mehr als zwei Chromosomenloci als signifikant grösser. Auch wurde über ein erhöhtes Risiko der Transformation einer Dysplasie zu einem Plattenepithelkarzinom berichtet, wenn die LOH bei den Genloci 3p und/oder 9p nachgewiesen wurden (BRENNAN ET AL. 2007). Weitere prospektive und idealerweise vergleichende klinische Forschungsarbeiten sind aber notwendig, um einen molekularen Marker zu definieren, der eine maligne Transformation zuverlässig voraussagen könnte.

Pathogenese und der rote Aspekt der Läsion (OE und OEL)

Die Pathogenese der OE beruht noch weitgehend auf Spekulationen und Hypothesen. Die zentrale Frage, ob die OE de novo entsteht oder sich aus einer oralen Leukoplakie differenziert, ist bis anhin unbeantwortet und sollte Gegenstand zukünftiger Studien sein (REICHART & PHILIPSEN 2005). Eine Beschreibung, weshalb OE klinisch rot erscheinen, ist in der frühen OE-Literatur bei SHEAR (1972) zu finden: «Das fragile, undifferenzierte Epithel mit seiner erhöhten Transluzenz und der dicht anliegenden vaskulären Lamina propria» wird als Grund für die rote Farbe der Läsion erachtet. Bei der mikroskopischen Betrachtung eines erythroplakischen Areales kann oft eine epitheliale Atrophie beobachtet werden (SOAMES & SOUTHAM 1998). Ausserdem kommt es generell durch Veränderungen im Gewebe zu einer reaktiven subepithelialen Entzündungsreaktion, welche zu Blutgefässerweiterungen und vermehrter vaskulärer Einsprossung führt.

Die mögliche Rolle von *Candida albicans* und HPV

Eine retrospektive Analyse von 4724 histopathologischen Biopsien ergab einen signifikant erhöhten Candidanachweis bei moderaten (n=200/davon positiver Nachweis: 18%) und schweren Dysplasien (n=138/davon positiver Nachweis: 15,2%) (BARRETT ET AL. 1998). Ebenso konnten FIELD ET AL. (1989) eine erhöhte Candidainfektionsrate bei Probanden mit einer OEL (*speckled lesion*) aufzeigen. Inwiefern *Candida albicans* eine Rolle in der Pathogenese der malignen Transformation von präkanzerösen Läsionen spielt, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Es wird berichtet, dass bei der malignen Transformation von präkanzerösen Läsionen die katalytische Produktion karzinogener Nitrosobenzylmethylamine, induziert durch *Candida albicans*, eine Rolle spielt (HSIA ET AL. 1981, KROGH 1990, O'GRADY & READE 1992). Aus 12 präkanzerösen Läsionen (Leukoplakien und OEL) isolierten Krogh und Mitarbeiter 15 verschiedene Biotypen von *Candida albicans*. Dabei wies diese Arbeitsgruppe den einzelnen *Candida*-Biotypen ein unterschiedliches Potenzial zur Katalyse von karzinogenen N-Nitrosobenzylmethylaminen nach. Biotypen von *Candida albicans* mit einem höheren Katalysepotenzial konnten dabei von Läsionen mit einem höheren Dysplasiegrad isoliert werden (KROGH ET AL. 1987).

Von den über 100 bis heute identifizierten HPV-Typen (HPV = *humanes Papillomavirus, human papillomavirus*) haben einige eine klare Assoziation mit dem Zervixkarzinom, wobei bis zu 15 HPV-Typen als *High-risk*-Viren gelten (u. a. die Typen 16, 18, 31) (BOSCH ET AL. 2002, MUÑOZ ET AL. 2003). Bereits in den 80er-Jahren des letzten Jahrhunderts wurde berichtet, dass ein Zusammenhang zwischen Mundhöhlenkarzinomen und dem HPV-Virus besteht (vgl. dazu die Übersichtsarbeit von SYRJÄNEN 2005). Mittlerweile wurden in vielen Studien orale Plattenepithelkarzinome mittels diverser Techniken auf den DNA-Gehalt von HPV analysiert (KREIMER ET AL. 2005, SYRJÄNEN 2005), wobei die Typen 16 und 18 am häufigsten isoliert wurden. Eine Studie untersuchte mittels PCR/Southern blot Hybridisierung den HPV-DNA-Gehalt bei 118 Plattenepithelkarzinomen und 72 oralen Leukoplakien. Die risikoreichen HPV-Typen 16 und 18 waren in 34,7% (41/118) aller Plattenepithelkarzinomen und 16,7% (12/72) aller Leukoplakien nachzuweisen (OSTWALD ET AL. 2003). Die Gruppe um NIELSEN ET AL. (1996) untersuchte das Vorkommen von HPV mit unterschiedlichen immunohistochemisch-molekulargenetischen Methoden in prämaligen Mundschleimhautläsionen von 49 Patienten, davon 10 mit OE und 6 mit OEL, sowie in der Mundschleimhaut von 20 Patienten ohne Läsionen. Bei allen Patienten ohne Läsionen konnte kein HPV nachgewiesen werden. Dagegen fiel bei 50% der OE und 33,3% der OEL der HPV-Nachweis positiv aus, wobei die Viren-Typen bei dieser Auswertung nicht spezifiziert wurden. Grundsätzlich braucht es aber weitere Daten, um die genaue Rolle von HPV bei der malignen Transformation von OE und OEL zu definieren.

Therapie, Rezidive und Transformationsrate

Da die OE und die OEL Läsionen mit hohem Entartungsrisiko sind und meistens histopathologisch bereits höhergradige Dysplasien oder bereits ein *Carcinoma in situ* aufweisen, sollten sie entsprechend therapiert werden. An der Klinik für Oralchirurgie und Stomatologie der Universität Bern wird eine rote Läsion mit höhergradiger Dysplasie (mittelgradig/schwer) oder ein *Carcinoma in situ* prinzipiell wie ein Karzinom behandelt (Abb. 3, 4, 5a–c, 6). Diese Veränderung wird somit in toto mit



Abb. 3 62-jähriger Patient (gleicher Patient wie Abb. 1a–c und 2) mit bekanntem Nikotinabusus (120 pack years). Am Trigonum retromolare rechts sowie am Alveolarkamm regio 46–48 fielen prädominierend rote atrophische Läsionen mit unruhig erscheinenden Rändern auf. Die klinische Diagnose lautete OE, die histopathologische Untersuchung ergab ein Plattenepithelkarzinom (pT2pN0). Die Therapie bestand in transoraler Tumorresektion und nachfolgender Radiatio.

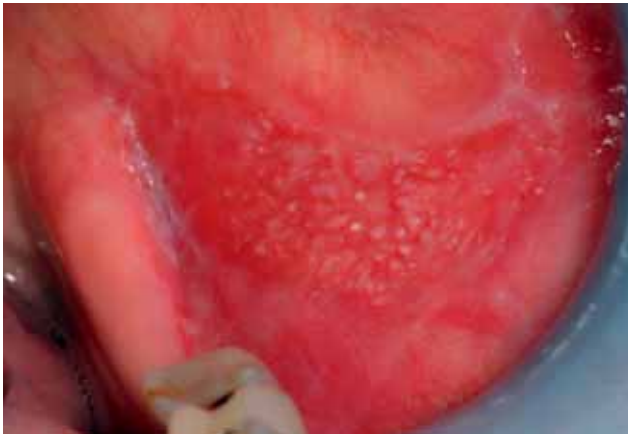


Abb. 4 55-jährige Patientin, bekannter Nikotinabusus (40 pack years). Klinisch imponierte im Planum buccale links eine rote unruhig wirkende Läsion mit weissen knötchenförmigen Stippelungen (klinische Diagnose: OEL). Die histopathologische Untersuchung ergab ein gut differenziertes Plattenepithelkarzinom (cT2cN0cMx). Aufgrund der Ausdehnung wäre ein rein chirurgisches Vorgehen mit einem ausgedehnten Gewebedefekt verbunden gewesen, weshalb primär durch Radiatio (70 Gy) therapiert wurde.

Sicherheitsabstand exzidiert. Dem Patienten werden darüber hinaus im Sinne der Primärprävention die Zusammenhänge zu allfällig vorhandenen Risikofaktoren wie Rauchen und Alkohol aufgezeigt (REICHART 2000). Eine Raucherentwöhnung wird angeregt und bei Bedarf auch eine Nikotinsubstitutionstherapie durchgeführt, gemäss den Richtlinien des Projektes «Rauchen – Intervention in der zahnmedizinischen Praxis» des Nationalen Rauchstoppprogramms «Rauchen schadet – Let it be» (RAMSEIER ET AL. 2007). Nach der Initialtherapie erfolgt ein engmaschiges Recall, jeweils mit einer sorgfältigen Inspektion der Mundhöhle (Rezidivprophylaxe) und der Reevaluation allfällig persistierender Noxen (Rauchen und/oder Alkoholkonsum). Eine Präkursorläsion mit einer leichten Dysplasie kann exzidiert oder eventuell beobachtet werden, ein engmaschiges Recall ist aber prinzipiell Voraussetzung.

Generell werden präkanzeröse Läsionen eher nach individuellen klinischen Präferenzen und nicht nach allgemein anerkannten Kriterien und Richtlinien behandelt (MARLEY ET AL. 1996). Auch kann das biologische Verhalten einer prämaligen Läsion bisher nicht sicher vorausgesagt werden. So werden, gemäss Umfragen bei Ärzten in England, sehr unterschiedliche Therapien bei präkanzerösen Läsionen durchgeführt, z. B. Exzision, Laserablation, Radiotherapie, topische und systemische Retinoide, Antimykotika, Traumaelimination, keine aktive Therapie (MARLEY ET AL. 1996, MARLEY ET AL. 1998). Auch für eine Evidenz-basierte Empfehlung zum Vorgehen bei präkanzerösen Läsionen, welche histopathologisch bereits Dysplasien aufweisen, fehlen bis heute ausreichend randomisierte kontrollierte Studien (BRENNAN ET AL. 2007, HOLMSTRUP ET AL. 2007).

Es gibt keine Studien, bei denen die Therapie der OE oder OEL alleine untersucht wurde. Es konnte nur eine Übersichtsarbeit (REICHART & PHILIPSEN 2004) zur OE gefunden werden, welche sich jedoch bezüglich den therapeutischen Empfehlungen auch auf einzelne Studien mit präkanzerösen Läsionen und auf eine systematische Übersichtsarbeit der Cochrane-Datenbank zur Behandlung der Leukoplakie im Allgemeinen (kürzlich aktualisiert: LODI ET AL. 2006) bezog. Bei dieser systematischen Übersicht, welche lediglich RCTs (randomised controlled trials) zum Thema berücksichtigte, kamen die Autoren

zum Schluss, dass es bisher keine bekannte Therapie gibt, welche eine maligne Transformation der Leukoplakie wirkungsvoll verhindern kann.

Die Gruppe um Thomson (THOMSON ET AL. 2002) wertete die CO₂-Laser-Exzisionen von präkanzerösen und kanzerösen Läsionen mit einer durchschnittlichen Nachkontrollperiode von 5,5 Jahren (1,1 bis 20,2 Jahren) aus. Nebst Plattenepithelkarzinomen und Leukoplakien wurden auch 17 OEL (28%) und zwei OE (3%) mit dem Laser exzidiert. Alle Läsionen wurden primär durch eine Probebiopsie histopathologisch analysiert, und das Laserexzizat wurde erneut untersucht. Dabei gab es nur eine OEL und eine OE, welche bei beiden histopathologischen Untersuchungen noch kein *Carcinoma in situ* oder invasives Karzinom aufwies. Diese OEL wurde 18 Monate, die OE acht Monate ohne Rezidive nachkontrolliert. Von weiteren fünf OEL, bei welchen in der histopathologischen Untersuchung bereits ein *Carcinoma in situ* nachgewiesen worden war, wurden vier Fälle zwischen einem und 39 Monaten nachkontrolliert. Davon zeigten drei OEL kein Rezidiv, bei einem Fall wurde nach 20 Monaten ein Plattenepithelkarzinom in derselben Region festgestellt. Eine weitere OEL (histopathologisch: initial *Carcinoma in situ*; nach der CO₂-Laser-Exzision schwere Dysplasie) sowie eine OE (histopathologisch: initial mikroinvasives Plattenepithelkarzinom; nach der CO₂-Laser-Exzision schwere Dysplasie) wiesen lokale Rezidive als Plattenepithelkarzinom (24 Monate) bzw. als *Carcinoma in situ* (29 Monate) auf. Diese Fälle verdeutlichen einmal mehr, dass Probebiopsien nicht immer mit dem histopathologischen Aspekt im ganzen Exzizat übereinstimmen müssen, wie HOLMSTRUP ET AL. (2007) zeigten (vgl. auch Teil 1 dieser Übersichtarbeit unter «Histopathologische Untersuchung und Dysplasiegrad», SUTER ET AL. 2008). Des Weiteren lässt sich aus diesen Fällen vermuten, dass OE trotz Exzision rezidivanfällig sind und eine höhere Transformationsrate als Leukoplakien aufweisen. Interessanterweise traten bei beiden letztgenannten Fälle der Arbeit von THOMSON ET AL. (2002) vor den lokalen Rezidiven an einer anderen Lokalisation der Mundhöhle ein *Carcinoma in situ* bzw. ein mikroinvasives Plattenepithelkarzinom auf. Dieses Phänomen kann mit der sogenannten Feldkanzerisierungstheorie nach Slaughter (field cancerization) erklärt werden (SLAUGHTER ET AL. 1953, BRAAKHUIS ET AL. 2003).

Weitere Studien untersuchten die Resultate von CO₂-Laser-Exzisionen bei oralen Leukoplakien, zu denen auch OEL zählten (CHIESA ET AL. 1990, ROODENBURG ET AL. 1991, DUNSCHE & HÄRLE 2000, PANDEY ET AL. 2001). Alle Resultate bezogen sich aber immer auf die Gesamtzahl aller Leukoplakien, d. h. homogene und inhomogene Leukoplakien wurden nicht separat ausgewertet. Die Studie von Pandey und Mitarbeitern (PANDEY ET AL. 2001) war die einzige, welche ausschliesslich inhomogene Leukoplakien auswertete, aber ohne separate Zahlen für die OEL anzugeben. Die lokalen Rezidivraten aller Leukoplakien betragen 4,9% (DUNSCHE & HÄRLE 2000), 9,7% (ROODENBURG ET AL. 1991), 10,1% (PANDEY ET AL. 2001) bzw. 20,6% (CHIESA ET AL. 1990). In den Nachkontrollperioden, welche 6 Monate bis 12 Jahre betragen, wurden keine Karzinome registriert, mit Ausnahme der Gruppe um CHIESA ET AL. (1990), die nach einem Monat ein Plattenepithelkarzinom als Lokalrezidiv und bei einem anderen Patienten nach 24 Monaten ein Plattenepithelkarzinom an einer anderen Lokalisation der Mundhöhle feststellte. In der Literatur fehlen die Rezidivraten nach CO₂-Laser-Exzisionen von Leukoplakien allgemein tiefer aus als nach klassischer Skalpell-Exzision (BORNSTEIN ET AL. 2003). Die Daten sind aber wegen der Studieninhomogenität

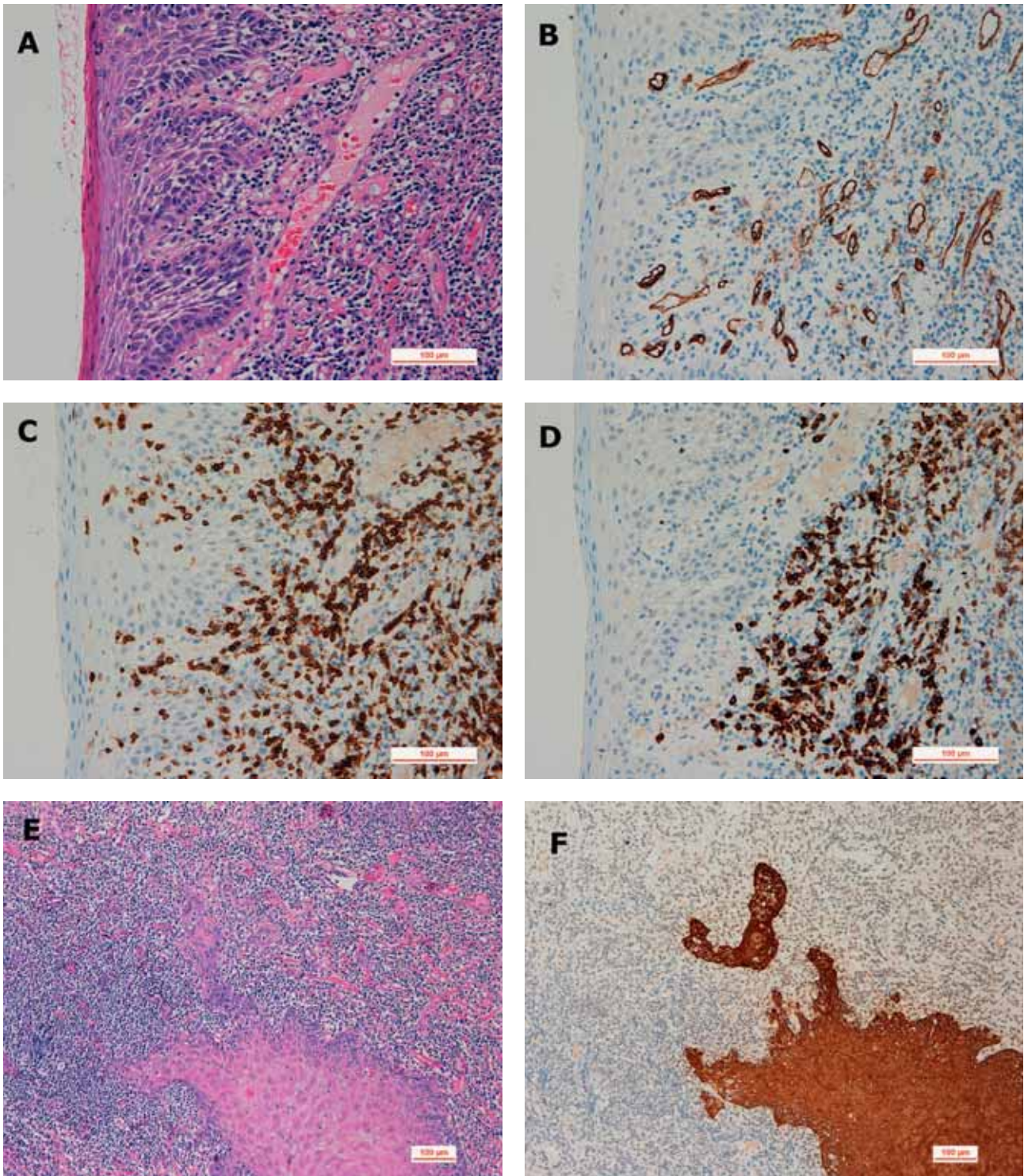


Abb. 5 Orale Erythroleukoplakie mit mittelgradiger Plattenepitheldysplasie (gleicher Patient wie bei Abb. 4): Die klinisch weissen Areale lassen sich durch die Zonen von Hyper- und Dyskeratose erklären (A; Hämatoxylin-Eosin-Färbung; Originalvergrößerung $\times 20$). Die roten Bezirke beruhen wahrscheinlich auf den neu gebildeten Blutgefässen (B; CD34-Färbung; Originalvergrößerung $\times 20$) sowie auf den Infiltraten mit T-Lymphozyten (C; CD3-Färbung; Originalvergrößerung $\times 20$) und B-Lymphozyten (D; CD79a-Färbung; Originalvergrößerung $\times 20$). Der Übergang in das gut differenzierte, invasiv wachsende Plattenepithelkarzinom (E; Hämatoxylin-Eosin-Färbung; Originalvergrößerung $\times 10$) lässt sich mit immunohistochemischen Methoden leicht darstellen (F; CK5/6-Färbung; Originalvergrößerung $\times 10$).

nicht vergleichbar und dürfen auch nicht auf OEL extrapoliert werden.

Andere Lasertypen werden aufgrund verschiedenster Nachteile deutlich seltener bei der Exzision prämaligener Läsionen

eingesetzt und sind daher für diese Therapie nicht etabliert. Eine neuere Arbeit untersuchte die Exzision von malignen und prämaligen Läsionen, davon drei OE mit histopathologisch moderater Dysplasie, mit dem Nd:YAG-Laser (TEWARI ET AL.



Abb. 6 59-jährige Patientin, Status nach Plattenepithelkarzinom am Alveolarkamm rechts vor drei Jahren und links vor zwei Jahren. Seit drei Jahren Tabakabstinenz. Klinisch war an der Zungenunterseite rechts eine nicht abwischbare weisslich-rote palpationsdolente Schleimhautveränderung mit einem ca. 9×6 mm messenden erosiven Bereich festzustellen (Klinische Diagnose: OEL). Die histopathologische Untersuchung ergab ein Plattenepithelkarzinom (pT1pN0), welches in toto exzidiert wurde.

2007). Die mögliche histopathologische Beurteilung, bzw. das Ausmass der thermischen Schädigung im Randbereich, wurde jedoch in dieser Studie nicht untersucht.

Eine Arbeit aus Dänemark beschrieb die chirurgische Therapie von 61 Patienten mit prämaligen Läsionen in den Jahren 1980 bis 1987. Alle Läsionen wurden mit dem Skalpell mit einem Sicherheitsabstand von 3 bis 5 mm unter Lokalanästhesie oder Narkose entfernt. Die Mukosadefekte wurden entweder primär oder durch die Transposition lokaler Mukosalappen verschlossen. Konnte diese Methode nicht angewandt werden, wurden die Defekte durch Spaltlappen der Haut bedeckt. Von den zehn OE und den 15 OEL gab es keine fallbezogenen histopathologischen Angaben. In einer Nachkontrollzeit von ein bis fünf Jahren gab es bei vier OE und bei drei OEL ein Rezidiv, wovon zwei Rezidive der OEL bereits Karzinome waren (VEDTOFTE ET AL. 1987). Eine neuere Arbeit derselben Gruppe (HOLMSTRUP ET AL. 2006) machte eine retrospektive statistische Auswertung von prämaligen Läsionen (Leukoplakien und OE) der Jahre 1977 bis 1997, welche ergab, dass bei nicht-homogenen Leukoplakien im Vergleich zu homogenen Leukoplakien ein sieben Mal höheres Risiko zur Entwicklung eines Plattenepithelkarzinoms bestand. Auch die Grösse der Läsion – unabhängig vom klinischen Aspekt – spielt eine Rolle. So besteht ein 5,4-mal höheres Risiko der Entartung, wenn die Läsion grösser als 200 mm² misst.

Studien, welche die Transformationsraten an grösseren Populationen untersuchten, sind bei der OE nicht vorhanden. In der älteren Literatur konnten einige Daten von OEL gefunden werden, welche aber mit Vorsicht betrachtet werden sollten. Eine Studie, welche die Transformationsrate sowohl von Leukoplakien (107) wie auch von OEL (128) untersuchte, zeigte eine deutlich höhere Transformation der Läsionen auf, welche rote Komponenten (23,4% gegenüber 6,5% bei homogenen Leukoplakien) aufwiesen (SILVERMAN ET AL. 1984). Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit dieser Studie betrug 7,2 Jahre. ROED-PETERSEN (1971) beschrieb eine Transformationsrate von 1,3% (8/598) der klinisch festgestellten homogenen Leukoplakien, während diese bei den «speckled leukoplakias» bei 9,1% (1/11) lag. BÁNÓCZY (1977) kontrollierte während durchschnittlich

9,8 Jahren (1–30 Jahre) 670 Leukoplakie-Patienten. Dabei erkannte er, dass «erosive» Leukoplakien das höchste Risiko hatten, ein Karzinom zu entwickeln. Seine Untersuchung ergab bei letztgenannten eine maligne Transformationsrate von 25,9%.

Schlussfolgerungen

Jede rote Mukosaläsion bedarf einer sorgfältigen klinischen Inspektion, wobei das Wissen um die verschiedenen Differentialdiagnosen vorhanden sein sollte. Im Zweifelsfall sollte eine Biopsie mit histopathologischer Untersuchung zur Diagnose-sicherung und Abklärung allfälliger Dysplasien entnommen werden. Bei einer verdächtigen Läsion ist dies eine *Conditio sine qua non*.

Die orale Zytologie sollte ergänzend, aber nicht als Ersatz der klassischen Histopathologie angewandt werden. Wir gewinnen aus der konventionellen Zytologie, ergänzt durch die DNA-Bildzytometrie, eine Zusatzinformation besonders zur Prognose einer fraglichen Schleimhautveränderung. Bei einer OE und OEL mit histopathologisch milder Dysplasie, aber positiver DNA-Aneuploidie, empfehlen wir dem Patienten die Exzision der gesamten Läsion mit Sicherheitsabstand.

Eine OE oder OEL mit höhergradiger Dysplasie (mittelgradig/schwer) oder *Carcinoma in situ* sollte prinzipiell wie ein Karzinom behandelt werden. Eine Exzision (CO₂-Laser und/oder Skalpell) mit Sicherheitsabstand und erneuter histopathologischer Untersuchung ist indiziert. Risikofaktoren, wie Tabak und Alkohol, sollten eliminiert werden. Ein engmaschiges Recall zur frühzeitigen Rezidiverkennung ist unabdingbar.

Die Rolle von *Candida albicans* sowie von HPV bei der Genese von OE und OEL und der malignen Entartung dieser Veränderungen bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen. Offen bleibt auch, ob in Zukunft genetische/molekularbiologische Marker die Entwicklung einer epithelialen Präkursorläsion hin zu einem Plattenepithelkarzinom zuverlässig voraus-sagen können. Somit wäre neben der Diagnose auch eine Aussage zur Prognose von Risikoläsionen der Mundhöhlenschleimhaut möglich, und die teils doch recht invasive Therapie könnte zielgerichteter erfolgen.

Summary

SUTER V G A, MORGER R, ALTERMATT H J, SPIELER P, BORNSTEIN M M: **Oral erythroplakia and erythroleukoplakia: Red and red-white epithelial precursor lesions of the oral mucosa – Part 2: Cytopathology, pathogenesis, therapy, and prognostic aspects** (in German). *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 118: 510–518 (2008)

The second part of the present review article presents and discusses the current literature regarding cytodagnostic aspects, pathogenesis, therapy, incidence of recurrence, and malignant transformation rate of oral erythroplakia (OE) and oral erythroleukoplakia (OEL). Oral cytopathology, eventually in combination with DNA cytometry, can add valuable information to conventional histopathology, but is not able yet to replace the aforementioned. Numerous molecular genetic variants have been studied in precancerous lesions to gain knowledge about the prognosis of these lesions. Still, there are no evidence-based parameters available to safely detect precursor lesions that will undergo malignant transformation in the future. Excision of OE and OEL should be performed with a margin of safety using the CO₂ laser or a scalpel. Data about incidence of recurrence and malignant transformation rates of OE are mostly based upon case reports or case series. The OEL has a significantly higher risk of malignant transformation than oral leukoplakias.

Résumé

Dans la présente deuxième partie d'une revue générale de la littérature actuelle de l'érythroplasie orale et l'érythroleucoplasie orale: le diagnostic cytologique, la pathogénèse, la thérapie, la tendance de récidive et le taux de transformation sont présentés et discutés. La cytopathologie orale, éventuellement complétée par la cytométrie de l'ADN, peut fournir des informations précieuses pour le diagnostic, mais ne peut jamais remplacer l'histopathologie. De nombreuses modifications moléculaires-génétiques ont été étudiées chez des lésions pré-

cancéreuses pour pouvoir en tirer un pronostic. Néanmoins il n'existe encore aucun paramètre fondé sur des preuves qui pourrait pronostiquer une transformation maligne. L'excision d'une érythroplasie ou érythroleucoplasie orale se fait au moyen du scalpel ou du laser à CO₂ tout en respectant une marge de sécurité. Seulement des cas isolés d'érythroplasie fournissent des données sur les récidives et le taux de transformation maligne. Comparés aux leucoplasies orales, des taux de transformation nettement plus élevés ont pu être constaté chez les érythroleucoplasies orales.

Literaturverzeichnis

- BÁNÓCZY J: Follow-up studies in oral leukoplakia. *J Maxillofac Surg* 5: 69-77 (1977)
- BARRETT A W, KINGSMILL V J, SPEIGHT P M: The frequency of fungal infection in biopsies of oral mucosal lesions. *Oral Dis* 4: 26-31 (1998)
- BORNSTEIN M M, SUTER V G, STAUFFER E, BUSER D: Der CO₂-Laser in der Stomatologie, Teil 2. *Schweiz Monatschr Zahnmed* 113: 767-778 (2003)
- BOSCH F X, LORINCZ A, MUÑOZ N, MEIJER C J L M, SHAH K V: The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 55: 244-265 (2002)
- BÖCKING A: Standardisierte Befunderstellung in der extragenitalen Zytologie, Standardisierung der zytopathologischen Diagnostik. *Pathologie* 19: 235-258 (1998)
- BRAAKHUIS B J, TABOR M P, KUMMER J A, LEEMANS C R, BRAKENHOFF R H: A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res.* 63: 1727-1730 (2003)
- BRENNAN M, MIGLIORATI C A, LOCKHART P B, WRAY D, AL-HASHIMI I, AXELL T, BRUCE A J, CARPENTER W, EISENBERG E, EPSTEIN J B, HOLMSTRUP P, JONTELL M, NAIR R, SASSER H, SCHIFTER M, SILVERNMAN B, THONGPRASOM K, THORNHILL M, WARNAKULASURIYA S, VAN DER WAAL I: Management of oral epithelial dysplasia: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 103 Suppl: S19.e1-S19.e12 (2007)
- BURKHARDT A, BURKHARDT A M, AKLAN T: Die Bürstenbiopsie – Grundlagen und Ergebnisse einer neuen Methode zur Abklärung von Mundschleimhautläsionen. *Thüringer Zahnärztl* 4: 21-29 (2006)
- CHIESA F, TRADATI N, SALA L, COSTA L, PODRECCA S, BORACCHI P, BANDIERAMONTE G, MAURI M, MOLINARI R: Follow-up of oral leukoplakia after carbon dioxide laser surgery. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 116: 177-180 (1990)
- CURFMAN G D, MORRISSEY S, DRAZEN J M: Retraction: Sudbø J et al. DNA content as a prognostic marker in patients with oral leukoplakia. *N Engl J Med* 2001; 344: 1270-1278 and Sudbø J et al. The influence of resection and aneuploidy on mortality in oral leukoplakia. *N Engl J Med* 2004; 350: 1405-1413. *N Engl J Med* 18: 1927 (2006)
- DUNSCH A, HÄRLE F: Die Krebsvorstufen der Mundschleimhaut – eine Übersicht. *Laryngorhinotologie* 79: 423-427 (2000)
- FEULGEN R, ROSSENBECK H: Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten. *Z Physiol Chem* 135: 203-248 (1924)
- FIELD E A, FIELD J K, MARTIN M V: Does Candida have a role in oral epithelial neoplasia? *J Med Vet Mycol* 27: 277-294 (1989)
- HALBRITTER S A, SPIELER P, BORNSTEIN M M: Risikoläsionen der Mundhöhlenschleimhaut. Diagnostik, Therapie und Nachsorge anhand zweier Fallberichte. *Schweiz Monatschr Zahnmed* 117: 731-745 (2007)
- HOLMSTRUP P, VEDTOFTE P, REIBEL J, STOLTZE K: Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. *Oral Oncol* 42: 461-474 (2006)
- HOLMSTRUP P, VEDTOFTE P, REIBEL J, STOLTZE K: Oral premalignant lesions: is a biopsy reliable? *J Oral Pathol Med* 36: 262-266 (2007)
- HSIA C C, SUN T T, WANG Y Y, ANDERSON L M, ARMSTRONG D, GOOD R A: Enhancement of formation of the esophageal carcinogen benzylnitrosamine from its precursors by *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 1878-1881 (1981)
- HULLMANN M, REICHERT T E, DAHSE R, VON EGGELING F, PISTNER H, KOSMEHL H, DRIEMEL O: Orale Zytologie. Historische Entwicklung, aktueller Stand und Ausblick. *Mund Kiefer Gesichtschir.* 11: 1-9 (2007)
- KREIMER A R, GARY M C, BOYLE P, FRANCESCHI S: Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 467-475 (2005)
- KROGH P: The role of yeasts in oral cancer by means of endogenous nitrosation. *Acta odontol scand* 48: 85-88 (1990)
- KROGH P, HALD B, HOLMSTRUP P: Possible mycological etiology of oral mucosal cancer: catalytic potential of infecting *Candida albicans* and other yeasts in production of N-nitrosobenzylmethylamine. *Carcinogenesis* 8: 1543-1548 (1987)
- LODI G, SARDELLA A, BEZ C, DEMAROSI F, CARRASSI A: Interventions for treating oral leukoplakia. *Cochrane Database Syst Rev.* 4: CD001829 (2006)
- MARAKI D, BECKER J, BOECKING A: Cytologic and DNA-cytometric very early diagnosis of oral cancer. *J Oral Pathol Med* 33: 398-404 (2004)
- MARAKI D, HENGGE U R, BECKER J, BOECKING A: Very early cytological and DNA-cytometric diagnosis of *in situ* carcinoma in an immunosuppressed liver transplant recipient. *J Oral Pathol Med* 35: 58-60 (2006)
- MARLEY J J, COWAN C G, LAMEY P J, LINDEN G J, JOHNSON N W, WARNAKULASURIYA K A: Management of potentially malignant oral mucosal lesions by consultant UK oral and maxillofacial surgeons. *Br J Oral Maxillofac Surg*: 28-36 (1996)
- MARLEY J J, LINDEN G J, COWAN C G, LAMEY P J, JOHNSON N W, WARNAKULASURIYA K A, SCULLY C: A comparison of the management of potentially malignant oral mucosal lesions by oral medicine practitioners and oral & maxillofacial surgeons in the UK. *Br J Oral Pathol Med*: 489-495 (1998)
- MEHLHORN G, BECKMANN M W, ACKERMANN S: GebFra-Refresher. Praktische Kolposkopie der Cervix uteri. *Geburtsh Frauenheilk* 64: R261-R284 (2004)
- MITHANI S K, MYDLARZ W K, GRUMBINE F L, SMITH I M, CALIFANO J A: Molecular genetics of premalignant oral lesions. *Oral Dis* 13: 126-133 (2007)
- MUÑOZ N, BOSCH F X, DE SANJOSÉ S, HERRERO R, CASTELLSAGUÉ X, SHAH K V, SNIJDERS P J, MEIJER C J: International Agency for Research on Cancer, Multicenter Cervical Cancer Study Group: Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 348: 518-527 (2003)
- NIELSEN H, NORRILD B, VEDTOFTE P, PRÆTORIUS F, REIBEL J, HOLMSTRUP P: Human papillomavirus in oral premalignant lesions. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 32B: 264-270 (1996)
- O'GRADY J F, READE P C: *Candida albicans* as a promoter of oral mucosal neoplasia. *Carcinogenesis* 13: 783-786 (1992)
- OSTWALD C, RUTSATZ K, SCHWEDER J, SCHMIDT W, GUNDLACH K, BARTEN M: Human papillomavirus 6/11, 16 and 18 in oral carcinomas and benign oral lesions. *Med Microbiol Immunol* 192: 145-148 (2003)
- PANDEY M, THOMAS G, SOMANATHAN T, SANKARANARAYANAN R, ABRAHAM E K, JACOB B J, MATHEW B for the Trivandrum Oral Cancer Screening Study Group: Evaluation of surgical excision of non-homogenous oral leukoplakia in screening intervention trial, Kerala, India. *Oral Oncol* 37: 103-109 (2001)
- PARTRIDGE M, EMILION G, PATEROMICHELAKIS S, A'HERN R, PHILLIPS E, LANGDON J: Allelic imbalance at chromosomal loci implicated in the pathogenesis of oral precancer, cumulative loss and its relationship with progression to cancer. *Oral Oncol* 34: 77-83 (1998)
- PETIGNAT P, BOUCHARDY C, SAUTHIER P: Dépistage du cancer du col utérin: situation actuelle et perspectives. *Rev Med Suisse* 66: 1308-1309; 1311-1312 (2006)
- POATE T W J, HODGSON T A, SPEIGHT P M, BARRETT A W, MOLES D R, SCULLY C, PORTER S R: An audit of the efficacy of the brush biopsy technique in a specialist oral medicine unit. *Oral Oncol* 40: 829-834 (2004)
- QIN G Z, PARK J Y, CHEN S Y, LAZARUS P: A high prevalence of p53 mutations in pre-malignant oral erythroplakia. *Int J Cancer* 80: 345-348 (1999)

- RAMSEIER C A, BORNSTEIN M M, SAXER P U, KLINGLER K, WALTER C: Tabakprävention und -entwöhnung in der zahnmedizinischen Praxis. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 117: 253–266 (2007)
- REICHART P A: Primärprävention des Mundhöhlenkarzinoms und oraler Präkanzerosen. *Mund Kiefer GesichtsChir* 4: 357–364 (2000)
- REICHART P A, PHILIPSEN H P: Oral erythroplakia – a review. *Oral Oncol* 41: 551–561 (2005)
- REMMERBACH T W, WEIDENBACH H, POMJANSKI N, KNOPS K, MATHES S, HEMPRICH A, BÖCKING A: Cytologic and DNA-cytometric early diagnosis of oral cancer. *Anal Cell Pathol* 22: 211–221 (2001)
- REMMERBACH T W, MATHES S N, WEIDENBACH H, HEMPRICH A, BÖCKING A: Nichtinvasive Bürstenbiopsie als innovative Methode in der Früherkennung des Mundhöhlenkarzinoms. *Mund Kiefer GesichtsChir* 8: 229–236 (2004)
- REMMERBACH T W, HEMPRICH A, BÖCKING A: Minimalinvasive Bürstenbiopsie. Innovative Methode zur Früherkennung oraler Plattenepithelkarzinome. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 117: 926–940 (2007)
- ROED-PETERSEN B: Cancer development in oral leukoplakia: follow-up of 331 patients (abstract). *J Dent Res* 50: 711 (1971)
- ROODENBURG J L, PANDERS A K, VERMEY A: Carbon dioxide laser surgery of oral leukoplakia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 71: 670–674 (1991)
- SCHEIFELE C, SCHMIDT-WESTHAUSEN A M, DIETRICH T, REICHART P A: The sensitivity and specificity of the OralCDx technique: evaluation of 103 cases. *Oral Oncol* 40: 824–828 (2004)
- SCIUBBA J J: 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* 130: 1445–1457 (1999)
- SHEAR M: Erythroplakia of the mouth. *Int Dent J* 22: 460–473 (1972)
- SILVERMAN S, GORSKY M, LOZADA F: Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. *Cancer* 53: 563–568 (1984)
- SLAUGHTER D P, SOUTHWICK H W, SMEJKAL W: Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 6:963–968 (1953)
- SOAMES J V, SOUTHAM J C: Oral pathology. 3rd edition, Oxford University Press, New York, p. 148 (1998)
- SUDBØ J, KILDAL W, JOHANNESSEN A C, KOPPANG H S, SUDBØ A, DANIELSEN H E, RISBERG B, REITH A: Gross genomic aberrations in precancers: clinical implications of a long-term follow-up study in oral erythroplakias. *J Clin Oncol* 20: 456–462 (2002)
- SUTER V G, MORGER R, ALTERMATT H J, SPIELER P, BORNSTEIN M M: Erythroplakie und Erythroleukoplakie: Rote und rot-weiße Risikoläsionen der Mundhöhlenschleimhaut. Teil 1: Epidemiologie, Ätiologie, Histopathologie und Differentialdiagnose. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 118: 390–397 (2008)
- SYRJÄNEN S: Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *J Clin Virol* 32 Suppl 1: 59–66 (2005)
- TEWARI M, PRAMOD R, SINGH G B, KUMAR M, SHUKLA H R: Long-term follow-up results of Nd:YAG Laser treatment of premalignant and malignant (stage I) squamous cell carcinoma of the oral cavity. *J Surg Oncol* 95: 281–285 (2007)
- THOMSON P J, WYLIE J: Interventional laser surgery: an effective surgical and diagnostic tool in oral precancer management. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31: 145–153 (2002)
- VEDTOFTE P, HOLMSTRUP P, HJØRTING-HANSEN E, PINDBORG J J: Surgical treatment of premalignant lesions of the oral mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg* 16: 656–664 (1987)
- WARNAKULASURIYA S: Lack of molecular markers to predict malignant potential of oral precancer. *J Pathol* 190: 407–409 (2000)