

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni



Disertační práce

Petr POŠTA

Plzeň 2023

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni

Studijní program: Stomatologie (P5104)

**Problematika stanovení bezpečných resekcčních okrajů u orálních
dlaždicobuněčných karcinomů**

**Controversies in assessment of surgical safety margins in oral
squamous cell carcinoma**

Disertační práce

Školitel: doc. MUDr. et MUDr. Lukáš Hauer, Ph.D.

Plzeň, 2023

MUDr. et MUDr. Petr Pošta

Předmluva

Tato disertační práce vznikla na závěr mého doktorandského studia na Lékařské Fakultě v Plzni, Univerzity Karlovy a tímto si dovoluji celé dílo předložit k posouzení a umožnění jeho obhajoby.

Prohlašuji, že jsem předkládanou závěrečnou práci zpracoval samostatně pod dozorem mého školitele a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Plzni dne 07. 12. 2023

MUDr. et MUDr. Petr Pošta

Poděkování

Je mi velkým potěšením, že mohu touto cestou poděkovat svému školiteli doc. MUDr. et MUDr. Lukáši Hauerovi, Ph.D. za cenné rady a připomínky nejen v průběhu mého postgraduálního studia, psaní této práce a dalších odborných publikací, ale i v celém mém odborném působení.

Dále bych rád využil této příležitosti a in memoriam poděkoval MUDr. et MUDr. Jiřímu Walterovi, Ph.D., který se stal pro mě v průběhu studia medicíny inspirací a nasměroval moje kroky na mé současné pracoviště, tedy na Stomatologickou kliniku LFP UK a FN Plzeň a rovněž mě přivedl na myšlenku využití autofluorescence při chirurgické léčbě orálního spinocelulárního karcinomu.

V neposlední řadě patří mé díky všem kolegům, rodině a blízkým, kteří mě podporovali a bez jejichž pomoci bych nemohl své záměry realizovat.

MUDr. et MUDr. Petr Pošta

Abstrakt

Orální dlaždicobuněčný karcinom (oral squamous cell carcinoma – OSCC) je závažné a relativně časté onemocnění dutiny ústní. V současnosti je nadále léčbou volby radikální chirurgické odstranění tumoru. Zanechání reziduálních nádorových buněk v těle pacienta má jednoznačně negativní prognostický efekt. Klíčem k úspěchu této léčebné modality je přesné stanovení rozsahu tumoru a stanovení bezpečné chirurgické hranice resekce tumoru. Za tímto účelem jsou používány, dále zkoumány a nově vyvíjeny doplňující vyšetřující techniky umožňující identifikovat rozsah přítomnosti nádorově změněných buněk.

V prezentovaném výzkumu byl zkoumán přínos pre- a peroperačního použití přirozené autofluorescence. Podstatou našeho výzkumu je hypotéza, že použití přirozené autofluorescence, konkrétně systému VELscope (Visually Enhanced Lesion Scope), povede ke zvýšení úspěšnosti chirurgické terapie ve smyslu dosažení nádorových buněk prostého resekcčního okraje.

Celkový počet 122 pacientů s diagnózou OSCC zařazených do naší studie byl rozdělen po splnění inkluzních kritérií jednoduchou randomizací na studijní a kontrolní skupinu. Před operací každého pacienta ze studijní skupiny bylo provedeno vyšetření přístrojem VELscope společně s vyznačením rozsahu ztráty fluorescence. Pro tento účel jsme vyvinuli unikátní techniku tetování na sliznici. Následně byly porovnány výsledky po chirurgické léčbě, tedy stav okraje.

Patologického čistého okraje (pFM) jsme dosáhli u 55 pacientů, patologického blízkého okraje (pCM) u 6 případů a ve sledované skupině jsme se neseťkali s žádným případem patologicky pozitivního okraje (pPM) v slizničním okraji. Pro srovnání, výsledky kontrolní skupiny odhalily pPM v 7 případech, pCM ve 14 případech a pFM ve 40 ze všech případů ve slizničním okraji.

Tato studie prokázala, že předoperační vyšetření slizničního okolí tumoru pomocí autofluorescence může zvýšit schopnost dosáhnout R0 resekce.

Abstract

Oral squamous cell carcinoma (OSCC) is a serious and relatively common disease of the oral cavity. Radical surgical removal of the tumor currently remains the treatment of choice. Leaving residual tumor cells in the patient's body has a clearly negative prognostic effect. The key to the success of this treatment modality is the accurate determination of the extent of the tumor and the determination of the safe surgical margin of tumor resection. For this purpose, additional investigative techniques are used, further researched and newly developed to identify the extent of the presence of tumor-altered cells.

The benefit of pre- and intraoperative use of natural autofluorescence was investigated in the presented research. The essence of our research is the hypothesis that the use of natural autofluorescence, specifically the VELscope (Visually Enhanced Lesion Scope) system, will lead to an increase in the success of surgical therapy in terms of achieving a tumor cell-free resection margin.

The total number of 122 patients with a diagnosis of OSCC included in our study were divided after meeting the inclusion criteria by simple randomization into study and control groups. Before surgery, each patient from the study group was examined with a VELscope device together with marking the extent of fluorescence loss. For this purpose, we have developed a unique technique of tattooing on the mucous membrane. Subsequently, the results after surgical treatment, i.e. the condition of the margin, were compared.

We achieved a pathological clear margin (pFM) in 55 patients, a pathological close margin (pCM) in 6 cases, and we did not encounter any case of a pathologically positive margin (pPM) in the mucosal layer in the study group. In comparison, the results of the control group revealed pPM in 7 cases, pCM in 14 cases, and pFM in 40 of all cases in the mucosal layer.

This study demonstrated that preoperative autofluorescence assessment of the OSCC mucosa surrounding can increase the ability to achieve R0 resection.

Obsah

1.	Seznam používaných symbolů a zkratk (abecedně)	11
2.	Úvod	14
2.1.	Maligní onemocnění dutiny ústní.....	14
2.2.	Epidemiologie OSCC	14
2.3.	Etiologie OSCC	17
2.3.1.	Kouření a užívání tabáku.....	17
2.3.2.	Alkohol	17
2.3.3.	HPV infekce	18
2.3.4.	Žvýkání betelu	18
2.3.5.	Orální potenciálně maligní poruchy	19
2.3.5.1.	Leukoplakie	21
2.3.5.2.	Proliferativní verukózní leukoplakie	24
2.3.5.3.	Erytroplakie	24
2.3.5.4.	Orální submukózní fibróza	24
2.3.5.5.	Orální lichen planus.....	24
2.3.5.6.	Aktinická cheilitida.....	25
2.3.5.7.	Palatinální léze reverzních kuřáků.....	25
2.3.5.8.	Orální lupus erythematodes	25
2.3.5.9.	Dyskeratosis congenita	26
2.3.5.10.	Orální lichenoidní léze	26
2.3.5.11.	Orální graft versus host disease	26
2.3.5.12.	Onemocnění, která mají omezenou nebo nedostatečnou epidemiologickou evidenci ohledně malignizačního potenciálu.....	26
2.3.5.12.1.	Orální epidermolysis bullosa.....	27
2.3.5.12.2.	Chronická hyperplastická kandidóza	27
2.3.5.12.3.	Exofytická verukózní hyperplázie.....	27
2.3.6.	Malignizace mukózy normálního vzhledu	27
2.3.7.	Syndromy způsobující zvýšený výskyt OSCC	28
2.3.8.	Chromozomální a genomická nestabilita, aneuploidie, ztráta heterozygoty.....	28
2.3.8.1.	Aneuploidie	28

2.3.8.2.	Ztráta heterozygozity.....	28
2.4.	Diagnostika OSCC.....	29
2.4.1.	Klinické vyšetření	29
2.4.2.	Zobrazovací vyšetřovací techniky.....	29
2.4.2.1.	Optické vyšetřovací techniky	31
2.4.2.1.1.	Přirozená autofluorescence.....	31
2.4.2.1.2.	Kontaktní endoskopie	33
2.4.2.1.3.	Narrow band imaging	33
2.4.2.1.4.	Barvení Lugolovým roztokem nebo toluidinovou modří.....	33
2.4.2.1.5.	Otisková cytologie	33
2.4.2.1.6.	Optická koherentní tomografie (OCT)	33
2.4.2.1.7.	Úhlově rozlišená interferometrie s nízkou koherencí.....	33
2.4.2.1.8.	Tkáňová reflektance	34
2.4.2.1.9.	Optická spektroskopie	34
2.4.2.1.10.	Fluorescenční spektroskopie.....	34
2.4.2.1.11.	Difuzní reflexní spektroskopie.....	34
2.4.2.1.12.	Ramanova spektroskopie	34
2.4.2.1.13.	Elastická rozptylová spektroskopie.....	34
2.5.	TNM klasifikace	35
2.6.	Prognostické faktory	38
2.6.1.	Tumor asociované prognostické faktory	38
2.6.1.1.	Velikost primárního nádoru – T	38
2.6.1.2.	Přítomnost a rozsah metastáz – N	38
2.6.1.3.	Přítomnost vzdálených metastáz – M.....	39
2.6.1.4.	Histopatologické charakteristiky nádoru.....	39
2.6.1.4.1.	Perineurální invaze	40
2.6.1.4.2.	Hloubka invaze (DOI)	40
2.6.1.4.3.	Kostní invaze	40
2.6.1.4.4.	Vaskulární invaze	41
2.6.1.4.5.	Nádorový grade	42
2.6.1.4.6.	Pozitivní resekcční okraj	42

2.6.1.4.7.	Nejhorší vzor invaze (Worst pattern of invasion – WPOI)	43
2.6.1.4.8.	Příklady některých molekulárních prognostických faktorů.....	43
2.6.2.	Prognostické faktory závislé na pacientovi	44
2.6.3.	Prognostické faktory závislé na vnějších vlivech.....	45
2.7.	Léčba OSCC.....	46
2.7.1.	Radioterapie.....	48
2.7.2.	Systemová terapie.....	50
2.7.2.1.	Platinová cytostatika.....	50
2.7.2.1.1.	Cisplatina	50
2.7.2.1.2.	Karboplatina.....	51
2.7.2.2.	Taxany	51
2.7.2.2.1.	Paclitaxel.....	51
2.7.2.2.2.	Docetaxel	52
2.7.2.3.	Antimetabolity	52
2.7.2.3.1.	Fluorouracil.....	52
2.7.2.3.2.	Metotrexát.....	52
2.7.2.4.	Monoklonální protilátky / imunoterapie.....	53
2.7.2.4.1.	Imunoterapie	53
2.7.2.4.2.	Cetuximab	53
2.7.2.4.3.	Pembrolizumab	53
2.8.	Chirurgická léčba	55
3.	Hypotézy a cíle práce	57
4.	Materiál a metodika	58
5.	Výsledky.....	63
5.1.	Vlastnosti souboru.....	63
5.2.	Srovnání výsledků léčby	66
5.3.	Zhodnocení významu použití autofluorescence	67
6.	Diskuse	68
7.	Závěr.....	70
8.	Seznam obrázků.....	71
9.	Seznam tabulek.....	72

10. Seznam grafů.....	73
11. Použitá literatura	74

1. Seznam používaných symbolů a zkratek (abecedně)

(mi)	mikrometastáza
(sn)	sentinelová uzlina
ADP-riboza	adenosindifosfát-ribóza
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALDH	aldehyd dehydrogenáza
ANXA1	annexin A1
APC	antigen-presenting cell
BMI	body mass index
C1(RACK1)	receptor for activated protein kinase C1
CI	confidence interval
circRNA	circular ribonucleic acid
CIS	carcinoma in situ
ČR	Česká republika
ČSÚ	Český statistický úřad
CT	computed tomography
CTLA-4	cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4
CTV	clinical target volume
DC	dendritic cell
DFS	disease-free survival
DKC1	dyskerin pseudouridine synthase 1
DNA	deoxyribonucleic acid
DOI	depth of invasion
ECM	extracellular matrix
EGF	epidermal growth factor
EGFR	epidermal growth factor receptor
END	elective neck dissection
ENE	extra-nodal extension
ERK	extracellular signal-regulated protein kinase
ERTOC	European Organization for Research and Treatment of Cancer
FAD	flavinadenindinukleotid
FDA	Food and Drug Administration
FISH	fluorescence in situ hybridization

FLT	[18F]-fluoro-3'-deoxy-3'-L: -fluorothymidine
Ga-FAPI	gallium 68 (68Ga)-labeled fibroblast-activation protein inhibitor
GBD	global burden of disease
GCO	Global Cancer Observatory
GPS	Glasgow prognostic score
GVHD	graft versus host disease
HDR	high dose rate
HIV	human immunodeficiency virus
HPV	human papillomavirus
ICCR	International Collaboration on Cancer Reporting
IMRT	intensity-modulated radiation therapy
ITC	isolated tumor cells
LDH	laktátdehydrogenáza
LDR	low dose rate
m	přítomnost mnohočetných primárních nádorů v jedné lokalitě
maENE	macroscopic extra-nodal extension
mGPS	modified Glasgow prognostic score
miENE	microscopic extra-nodal extension
MMP-9	matrix metalloproteinase 9
MpCM	mucosal pathological close margins
MpFM	mucosal pathological free margins
MpPM	mucosal pathological positive margins
MR	magnetická rezonance
mRNA	messenger ribonucleic acid
MT1-MMP	membrane-type matrix metalloproteinase-1
MV	megavolt
N	přítomnost regionálních metastáz
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NFAT	nuclear factor of activated T-cells
NK buňky	natural killer buňky – druh lymfocytů
NOR	Národní onkologický registr České republiky
OCT	optical coherence tomography
OPMD	oral potentially malignant disorders

ORL	otorhinolaryngologie
OS	overall survival
OSCC	oral squamous cell carcinoma
PCR	polymerase chain reaction
PDGF	platelet derived growth factor
PDR	pulsed dose rate
PEG	perkutánní endoskopická gastrostomie
PET/CT	positron emission tomography/computed tomography
PET/MR	positron emission tomography/magnetic resonance
Pn	perineurální invaze
PNI	perineurální invaze
POCRT	pooperační chemoradioterapie
POI	pattern of invasion
PORT	pooperační radioterapie
PTHrP	parathormon related protein
PTV	planned targed volume
R	reziduální tumor
RNA	ribonucleic acid
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group
SNB	sentinel lymph node biopsy
SVOD	software pro vizualizaci onkologických dat
TNM	tumor, nodes, metastases
UICC	Union for International Cancer Control
USA	United States of America
USG	ultrasonografie
UV	ultraviolet
ÚZIS	Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR
VELscope	visually enhanced lesion scope
WHO	World Health Organization
WPOI	worst pattern of invasion
y	rozsah nádoru v konkrétní chvíli v průběhu či po skončení multimodální terapie
ZN	zhoubný novotvar

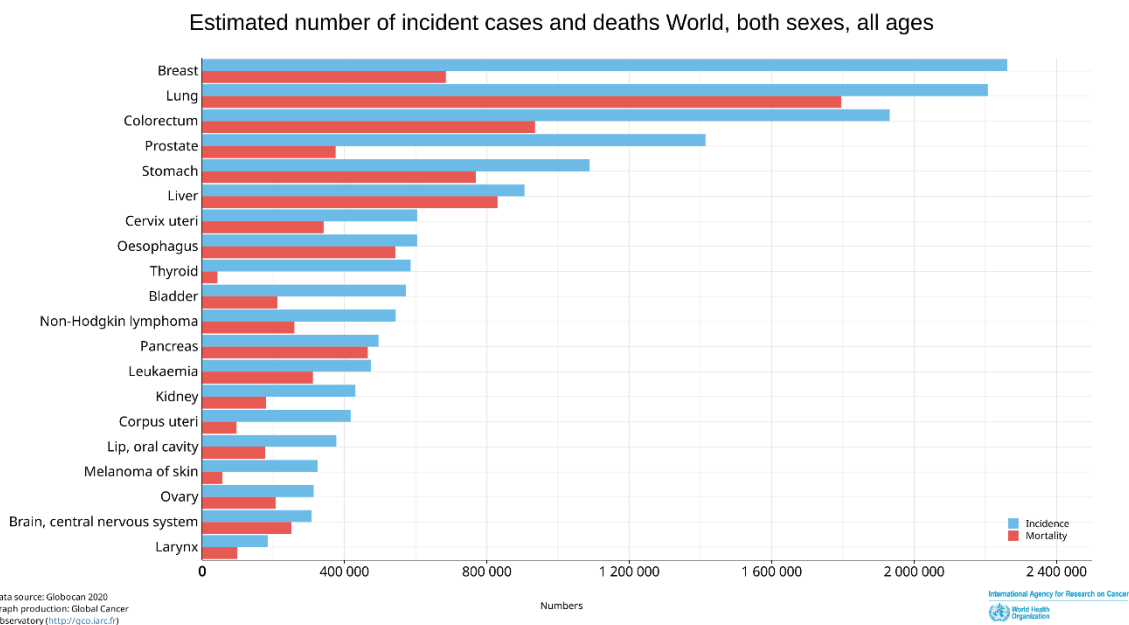
2. Úvod

2.1. Maligní onemocnění dutiny ústní

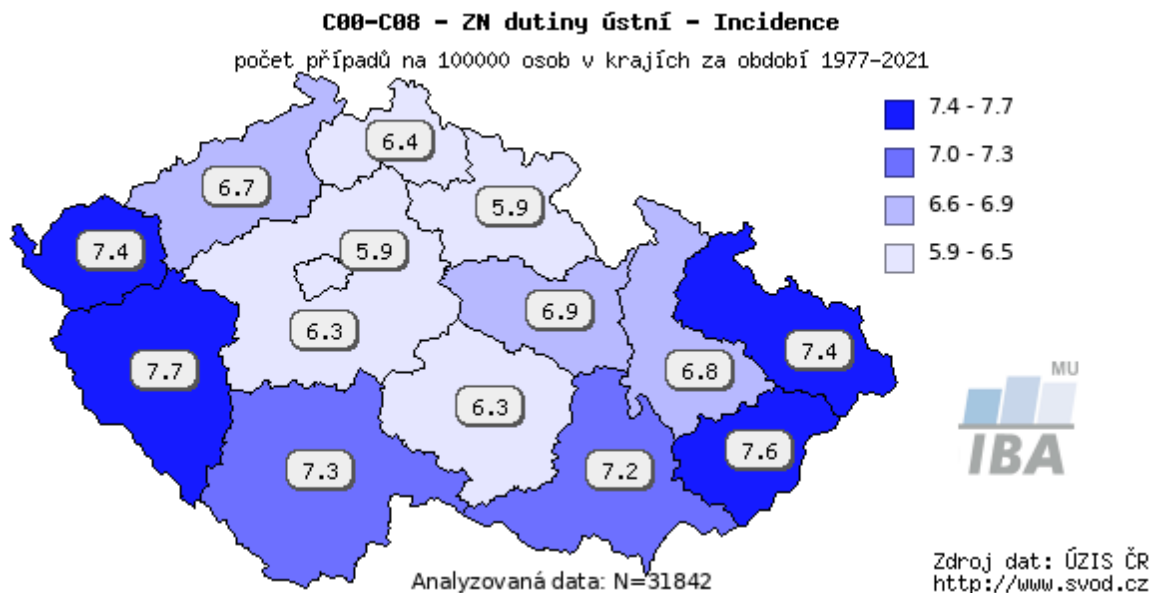
Oblast hlavy a krku je relativně často zasažena maligním onemocněním nejrůznější etiologie. Jedním z důvodů je i silná expozice externím, potencionálně kancerogenním vlivům, jako například UV záření, expozice škodlivým složkám obsažených v perorálně přijímaných nápojích a potravinách, zejména v různých návykových látkách či jiných chemikáliích, infekčním agens, ale i chronickému zraňování, například při narušené funkci mastikatorního aparátu. Jako příklad lze uvést častý výskyt kožních nádorů, mající jednoznačnou souvislost s expozicí UV záření [1,2]. Druhou nejčastější lokalitou výskytu malignit je sliznice dutiny ústní a dalších oblastí horního aerodigestivního traktu, kde je rovněž vysoká expozice nejrůznějším externím vlivům. Do této skupiny spadá i onemocnění OSCC, jehož léčba je předmětem zájmu tohoto výzkumu. Mimo to se v této lokalitě mohou primárně vyskytovat i jiné druhy malignit, mající jak ektodermální tak i například mezodermální původ, mohou zde být přítomny i vzdálené metastázy tumorů z jiných lokalit. Tyto druhy malignit se však oproti dříve zmiňovaným tumorům vyskytují ve výrazně menší míře [3].

2.2. Epidemiologie OSCC

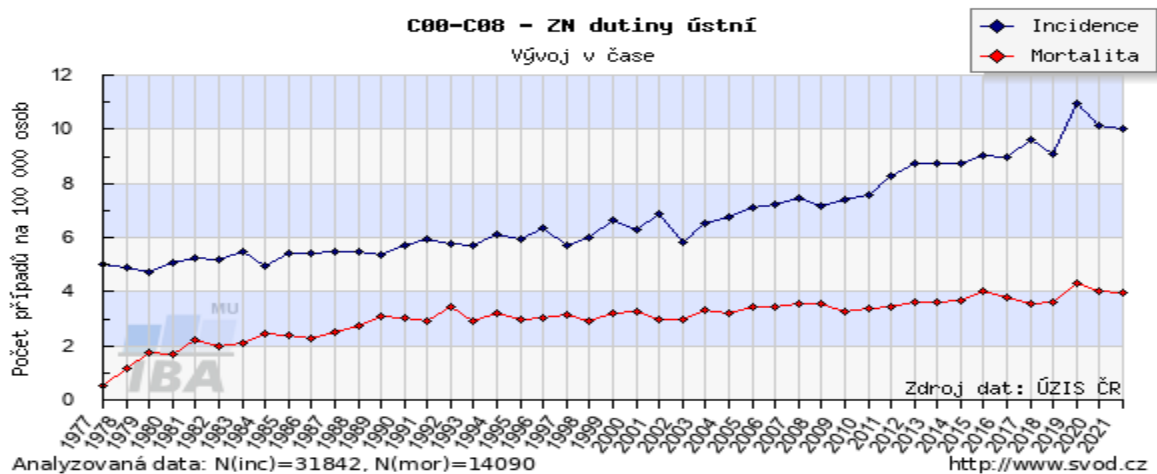
Orální dlaždicobuněčný karcinom v současnosti představuje 90 % všech malignit ústní dutiny. Dle celosvětové statistiky prezentované WHO, respektive Global Cancer Observatory (GCO) z dat GLOBOCAN 2020, se jedná o 16. nejčastější lidské maligní onemocnění (graf 1) [4]. V roce 2020 byla globální incidence odhadnuta v absolutním počtu na 377 713 nových případů, což je zhruba 2 % všech zaznamenaných malignit za toto období [4]. Relativně vysoká incidence je rovněž doprovázena i značně vysokou mírou smrtnosti tohoto onemocnění, která byla téhož roku odhadnuta na 177 757 nových úmrtí, respektive 1,9 % veškerých úmrtí souvisejících s maligním onemocněním [1]. Celosvětová studie opírající se o data GBD (Global Burden of Disease) zpracovala podklady z let 1990 – 2017 a zaznamenala nárůst incidence u OSCC o 109 % [5]. Odhadovaná incidence tohoto onemocnění v Evropě v roce 2020 byla 16,9, v Evropské unii 17,0 následovaná mortalitou 7,1, respektive 6,7 na 100 000 obyvatel [6]. Situace v České republice je srovnatelná s evropským průměrem a blíže je specifikována ve statistice SVOD (software pro vizualizaci onkologických dat), který pracuje s daty Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR (ÚZIS) a Národního onkologického registru ČR (NOR). Pro ilustraci, situaci dokresluje několik příložených obrázků a grafů převzatých z portálu SVOD (obrázek 1, graf, 2, 3, 4). Toto onemocnění postihuje nejčastěji muže v páté a vyšší dekádě života, je však zaznamenán nárůst incidence i v ženské populaci a rovněž i posun výskytu do mladších ročníků. Tato skutečnost je však geograficky poměrně variabilní (obrázek 4) [7].



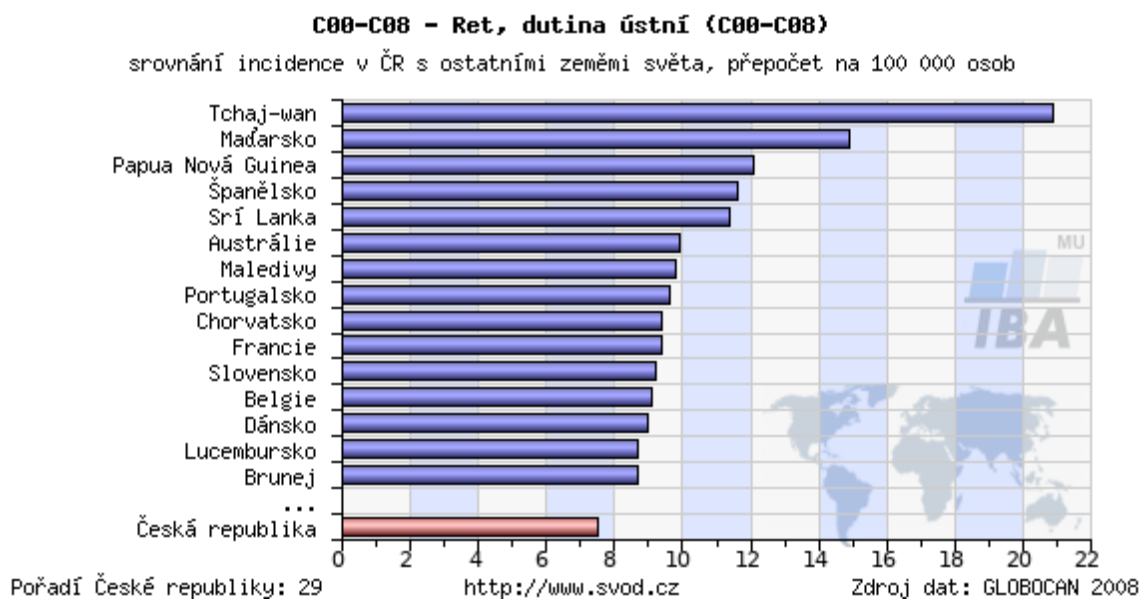
Graf 1 - Grafické znázornění celosvětové incidence a mortality jednotlivých malignit v absolutním počtu (Zdroj dat: GLOBOCAN 2020)



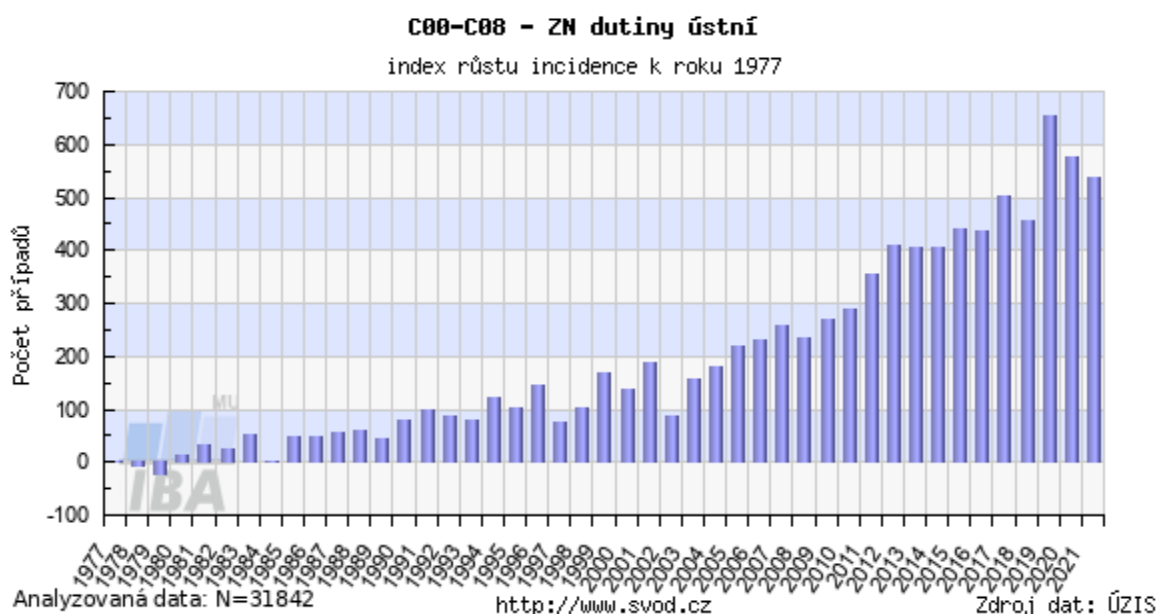
Obrázek 1 - Regionální rozložení incidence v rámci ČR (Zdroj dat: SVOD, ÚZIS ČR)



Graf 2 - Vývoj incidence v korelátu s mortalitou v čase v rámci ČR
(Zdroj dat: SVOD, ÚZIS ČR)



Graf 3 - Celosvětové srovnání incidence v poměru na 100 000 obyvatel
(Zdroj dat: SVOD, ÚZIS ČR)



Graf 4 - Grafické znázornění nárůstu incidence v čase v absolutním počtu v ČR
(Zdroj dat: SVOD, ÚZIS ČR)

2.3. Etiologie OSCC

V případě onemocnění OSCC není možné jednoznačně určit jasnou příčinu vzniku konkrétního tumoru, nicméně do současné doby bylo identifikováno množství rizikových faktorů a potencionálních kancerogenů, které vedou k častějšímu vzniku tohoto nádoru [8].

2.3.1. Kouření a užívání tabáku

Kuřáci mají obecně 3 – 5x větší riziko rozvoje OSCC oproti nekuřákovi [9,10]. Kouření tabáku může být v různých formách, nejčastěji v podobě klasických cigaret a doutníků, méně pak kouření klasické dýmky, v oblibě jsou rovněž vodní dýmky a v poslední době různé druhy vaporizérů. Poslední dvě formy se obecně považují za méně škodlivé, některé studie však dokazují, že to není tak docela pravda [11–13]. V tabáku a jeho kouři bylo nalezeno přes 9500 různých chemikálií, z toho jako karcinogeny bylo označeno 83 substancí, 37 v nezapáleném tabáku a 80 v tabákovém kouři. Nejčastěji se jedná o polycyklické aromatické uhlovodíky, N-nitrosaminy, aldehydy a další podobné složky [14]. Užívání nezapáleného tabáku ve formě žvýkání, vkládání do ústního vestibula či šňupání dle provedených studií rovněž zvyšuje riziko vzniku OSCC, i když v porovnání s kouřením relativně méně. Záleží však na formě užívání, například v Asii a Blízkém východu je riziko výrazně vyšší než třeba v Evropě. Tato diskrepance je pravděpodobně způsobena častou kombinací s betelem a jiné formy zvýšeně rizikového užívání běžného v Asii, na druhou stranu v Evropě jsou do těchto produktů přidávány antioxidanty a jiné složky signifikantně zmírňující škodlivost [15]. Užívání tabáku má kumulativní charakter, výše zmíněné složky se mohou dostávat do systému a při jejich metabolizování mohou vznikat další nebezpečné metabolity. Nicméně při přerušení užívání tabáku riziko vzniku OSCC klesá po 5 letech až o polovinu [16].

2.3.2. Alkohol

Chronická konzumace alkoholu má za následek vznik zhoubných nádorů různých tělesných lokalit, mimo jiné i OSCC. Alkohol urychluje progresi a zvyšuje agresivitu nádorů, molekulární a biochemická podstata tohoto jevu však není zatím zcela objasněna [17].

Dlouhodobou expozicí kmenových buněk OSCC bylo zjištěno, že v takovéto buněčné populaci dochází k zvýšení reprodukční kapacity, aktivity ALDH (aldehyd dehydrogenázy) a migračních schopností, prostřednictvím NFAT (nuclear factor of activated T-cells) buněčné signální dráhy pak ke zvýšení aerobní glykolýzy [17]. Účinky alkoholu se projevují též na složení mikrobiomu zvýšením poměru bakterií metabolizujících alkohol na acetaldehyd, který je známým karcinogenem a je důvodně podezřelý z lokální karcinogeneze v případě OSCC [18]. Dále přímo poškozuje tkáň, je genotoxický, podporuje tvorbu volných kyslíkových radikálů a způsobuje aktivaci buněk imunitního systému vyvolávající chronickou zánětlivou reakci [19]. Zejména pravidelná konzumace koncentrovaného alkoholu a současné kuřáctví je považováno za jednoznačný rizikový faktor při vzniku OSCC [20–22].

2.3.3. HPV infekce

Lidský papilomavirus je DNA epitelotropní virus který se vyskytuje ve více typech (nízce rizikové až vysoce rizikové) a v různé míře způsobuje vznik buněčné genomické nestability s důsledkem nádorové transformace a progresu [23,24]. Za vysoce rizikové se považují zejména typy 16 a 18. Virový genom zůstává většinou mimo buněčnou DNA, integrace do hostitelské DNA je však zásadní při HPV indukované kancerogenezi. Virová DNA kóduje tvorbu časných (E1-E8) a pozdních (L1 a L2) onkoproteinů. Virové onkoproteiny E6 a E7 exprimované vysoce rizikovými typy mají silnou afinitu k tumor supresorovým proteinům p53 a pRb (retinoblastomový protein). Jejich inaktivace vede k potlačení apoptózy a stimulaci buněčného cyklu se syntézou DNA. Tyto onkoproteiny dále interagují s adhezními molekulami, což vede k usnadnění nádorové invaze a metastazování. HPV též inhibuje imunitní dozor nad nádorovými buňkami [25,26]. Pouhá přítomnost virové DNA však nevypovídá o onkogenní aktivitě viru, o tomto lépe vypovídá monitorace exprese proteinu p16 a ještě lépe též detekce mRNA E6 a E7 [27–29]. Nádory orofaryngu jsou prokazatelně asociovány s HPV infekcí, kde pozitivita dosahuje 35-70 %. Tyto nádory se vyskytují častěji u pacientů mladších 60 let a histologicky nevykazují keratinizaci. Prognosticky jsou příznivější než HPV negativní nádory a rovněž lépe reagují na onkologickou terapii [29–33]. U karcinomů laryngu a dutiny ústní je HPV pozitivita detekována v 6 – 25 % [26,34,35], v případě hypofaryngu se pohybuje jen něco pod 15 % [36]. Bylo zjištěno, že infekce HPV několikanásobně zvyšuje riziko vzniku karcinomu orofaryngu u kuřáků a alkoholiků, v případě OSCC tato potenciace nebyla signifikantní [20]. Vliv infekce virem HPV je v oblasti OSCC kontroverzním tématem. Některé studie poukazují na relativně nízkou HPV pozitivitu u těchto nádorů (6 - 13 %) a byly postulovány teorie, že by se mohlo jednat o pouhou oportunní infekci [36–38]. Přenos viru je kontaktní, většinou prostřednictvím nechráněného pohlavního styku, v případě OSCC ve formě orálního sexu, není vyloučen ani přenos líbáním či autoinokulací [37,38].

2.3.4. Žvýkání betelu

Za hlavní viníky maligního zvratu v západním světě je nadále považováno kouření, pití alkoholu a infekce způsobené virem HPV. V zemích zejména jižní Asie je mezi nejčastější příčiny řazeno žvýkání tabáku a prostředků obsahujících plody areky obecné (*Areca catechu*) a listy pepřovníku betelového (*Piper betle*) s hašeným vápnem [39]. Epidemiologické studie z oblasti Asie odhalily prokazatelnou spojitost mezi žvýkáním betelu a OSCC, kterému často předchází postižení dutiny ústní v podobě orální submukózní fibrózy. Rovněž bylo zjištěno, že habituální užívání betelu zvyšuje riziko jaterní cirhózy a hepatocelulárního karcinomu [40].

2.3.5. Orální potenciálně maligní poruchy

Klinický význam mají pozorovatelné změny na orální sliznici, které jako takové nemají charakter malignity, ale na základě dlouholetého sledování bylo zjištěno, že se v čase mohou transformovat do maligního onemocnění – OSCC. Pro takovéto změny bylo ustanoveno označení orální potenciálně maligní poruchy (oral potentially malignant disorders – OPMD). Za účelem celosvětového sjednocení nomenklatury a klasifikace jsou pořádány workshopy WHO, kde jsou zohledněny nové poznatky a zpracovány v závěrečném výstupu. Naposledy se tak stalo v březnu roku 2020, finální podoba nové nomenklatury a klasifikace je popsána níže a byla v přípravě a psaní dizertační práce použita jako aktuálně platná. V současné době je připravováno 5. vydání WHO klasifikace nádorů hlavy a krku, kde došlo i ke změně klasifikace OPMD, k dispozici je však zatím pouze online beta verze. Nová podoba klasifikace OPMD, kterou by mělo přinést zmíněné 5. vydání klasifikace nádorů a vývoj změn v této klasifikaci v čase, je popsán v tabulce číslo 1.

Tabulka 1 – Změny v klasifikaci OPMD

3. edice OPMD 2005	4. edice OPMD 2017	5. edice OPMD 2022
Epidermolysis bullosa dystrophicans	Leukoplakie	Leukoplakie
Proliferativní verukózní leukoplakie	Proliferativní verukózní leukoplakie	Proliferativní verukózní leukoplakie
Xeroderma pigmentosum	Erytroplakie	Erytroplakie
Syfilitická glossitis	Erytroleukoplakie	Orální epiteliální dysplázie
Orální submukózní fibróza	Orální submukózní fibróza	Orální submukózní fibróza
Orální lichen planus	Orální lichen planus	HPV-asociovaná orální epiteliální dysplázie
Diskoidní lupus erythematosus	Diskoidní lupus erythematosus	
Plummer-Vinson syndrom	Chronická hyperplastická kandidóza	
	Plummer-Vinson syndrom	
	Patrové léze reverzního nikotinismu	
	Aktinická cheilitis	
	Keratózy bezdýmného tabáku	
	Dyskeratosis congenita	
	Epidermolysis bullosa dystrophicans	
	Syfilitická glossitis	

OPMD je definováno jako jakákoliv slizniční změna, která je spojena se statisticky významným zvýšením rizika rozvoje OSCC. Tyto změny mohou mít nejrůznější charakter co do barvy (bílá, červená a jejich kombinace), charakteru povrchu (plošné, verukózní, zvrásněné, granulární či atrofické) tak i do plochy [41,42]. Tyto změny mohou postupně i ulcerovat, nejčastěji vlivem chronického zraňování chrupem či jeho náhradami, mohou se vyskytovat uni- i multifokálně a analogické léze mohou být přítomny i extraorálně. Klinický vývoj těchto změn je nepředvídatelný, mohou být dlouhou dobu stacionární, mohou i spontánně regredovat ale i progredovat s následkem maligního zvratu [41,43]. Většina pacientů je s OPMD diagnostikována ve středním či vyšším věku [41,44]. Jsou pozorovány různé geografické odlišnosti v projevech OPMD, například starší ženy v západním světě s dlouhodobě přítomnou leukoplakií bez jiných rizikových faktorů mají vyšší riziko progresu do OSCC, což může poukazovat na endogenní rizikový faktor. Naproti tomu jihoasijská populace má vysokou incidenci OPMD jednoznačně spojenou s etnicko-kulturními faktory (betel, areka) [45–47]. Jedná se o relativně nehomogenní skupinu onemocnění mající široký rozsah malignizačního potenciálu (1,4 – 49,5%), více rizikové jsou erytroplakie a proliferativní verukózní leukoplakie s rizikem vzniku OSCC 30 – 50 %, na druhé straně v případě orálního lichenu je riziko jen asi 1 - 2 % [48]. Měřítkem míry rizika vzniku malignity může být například histologické zhodnocení stupně dysplazie či ploidie [49,50].

2.3.5.1. Leukoplakie

Dle platné definice WHO z roku 2007 se jedná o převážně bílou slizniční plochu nejasného rizika, kterou není možné setřít a není známá příčina, připouští se jen kouření u kuřáckých leukoplakií. Současně jsou vyloučeny jiné známé změny či onemocnění, které nenesou riziko zvýšené tvorby OSCC [51]. Jedná se o jeden z nejčastějších a nejvíce studovaných typů OPMD. Relativně recentně byla publikována práce shrnující vývoj vědeckých poznatků tohoto onemocnění [52]. Leukoplakii je možné rozdělit do dvou skupin a to na homogenní leukoplakii, která má typicky formu asymptomatické plošné, ostře ohraničené, hladké, ale i lehce texturované skvrny a na nehomogenní leukoplakii různého vzhledu, charakteru většinou erytroleukoplakie (kombinace bílých a rudých okrsků) s nodulárním či verukózním povrchem. Povrch tohoto typu může být místy ulcerován a nese vyšší riziko maligního zvratu [41,53]. V klasifikaci z roku 2007 byla erytroleukoplakie považována za samostatnou entitu, v současnosti je však řazena do kategorie nehomogenní leukoplakie. Jedná se primárně o klinickou diagnózu, v současnosti je však kladen důraz na histologické ověření pravé podstaty slizniční změny s cílem vyloučit jiné možné diagnózy a rovněž odhalit případné dysplastické změny [54,55].

Klinická kritéria diagnózy leukoplakie:

Převážně bílá plocha, kterou nelze setřít

- Homogenní leukoplakie mají většinou dobře demarkované okraje
- Nehomogenní leukoplakie mající nodulární a erytroidní složku nemusí být ostře ohraničené
- Vyloučeno chronické mechanické zraňování
- Nemá tendenci regredovat po odstranění domnělé příčiny (mechanického či jiného zraňování)
- Nemá tendenci vyblednout nebo zmizet při roztažení sliznice
- Jsou vyloučeny další příčiny bílé/rudé plochy zmíněné v tabulce číslo 2

Tabulka 2 - Možné příčiny bílé/rudé plochy kromě leukoplakie

Naevus spongiosus albus	Autozomálně dominantně dědičné onemocnění s projevy bílých až šedavých houbových eflorescencí difuzně na sliznici úst, projeví se již po narození či v časném dětství, může postihovat i sliznici genitálu či perianální oblast.
Frikční keratóza	Možný zdroj a známky chronického mechanického traumatu.
Morsicatio buccorum	Známý zlozvyk, projevy podél linea alba, nepravidelně zubaté bílé plochy.
Chemické poranění	Známé vystavení agresivním chemikáliím, i léčivům (aspirin, zubní bělidla), mohou být známky zánětlivé reakce, hojí se relativně rychle.
Orální lichen planus	Typická retikulární kresba většinou bilaterálně na tvářové sliznici, blíže dále v textu
Akutní pseudomembranózní kandidóza	Většinou difuzně na orální sliznici, bělavé nálety lze setřít a pod nimi je patrná zarudlá spodina, často existující predispozice (imunodeficience).
Chronická hyperplastická kandidóza	Adherující bělavé či červenobílé plochy způsobené chronickou infekcí <i>Candida albicans</i>
Leukoedém	Přítomný bilaterálně na tvářové sliznici, při napnutí sliznice vymizí, rasová predispozice.
Fordyceova granula	Méně jak 1 mm v průměru, mnohočetné bělavé skvrny lehce nad niveau sliznice, ostře ohraničené, jejichž podkladem jsou heterotopické mazové žlázy.
Stav po náhradě sliznice kožním štěpem či lalokem	Anamnesticky známá operace
Orální hairy leukoplakie	Často u imunosuprimovaných pacientů (HIV, transplantace, inhalační kortikoidy), projevy často na hranách jazyka ale i jinde ve formě keratózy
Nikotinická stomatitis	Šedavě bílé plochy na patře s rudými skvrnkami (zanícené malé slinné žlázy), anamnéza nikotinizmu, časté pití horkých nápojů.
Uremická stomatitida	Bělavé, ostře ohraničené adherující nálety tvořené fibrinem a deskvamovanými epitelii, anamnéza renálního onemocnění.

2.3.5.2. Proliferativní verukózní leukoplakie

Jedná se o zvláštní formu multifokální leukoplakie mající progresivní charakter, často měnící klinické a histopatologické znaky. V porovnání s ostatními OPMD má největší riziko maligního zvratu [48,56]. Může začínat jako několik různě lokalizovaných ložisek s postupnou tendencí se spojovat následkem progresu. Diagnostika je opět klinická ve spojení s bioptickou verifikací. Mezi klinická diagnostická kritéria patří postižení více jak dvou odlišných lokalit dutiny ústní, přítomnost verukózní komponenty a progresivní charakter, někdy může mít i lichenoidní vzhled a může tímto dojít k chybné diagnóze [57–62]. Recentní systematické review odhaduje riziko maligního zvratu na 49.5% (CI 26.7%–72.4%) [48]. Z těchto lézí vznikají nejčastěji spinocelulární ale i verukózní karcinomy, mohou být přítomna i mnohočetná primární ložiska, nejčastěji v oblasti gingivy [63].

2.3.5.3. Erytroplakie

Tato změna je definována jako převážně živě červená plocha, kterou není možné klinicky ani histologicky zařadit mezi jiná známá onemocnění. Klinicky se jedná většinou o ostře ohraničenou plochu či vkleslou erytematózní matnou oblast s vyloučenou zánětlivou složkou [64,65]. Léze bývají solitární, čímž se odlišují od klinicky podobných lézí jako je erozivní lichen planus, lupus erythematosus a erytematózní kandidóza. Do diferenciální diagnostiky mohou spadat i onemocnění autoimunitního typu, různé infekce a vaskulární léze [66]. Erytroplakie patří mezi vysoce rizikové formy OPMD a histologicky často prezentuje vysoký stupeň dysplazie či dokonce již invazivní formu OSCC [64].

2.3.5.4. Orální submukózní fibróza

Jedná se o onemocnění charakterizované ztrátou elasticity lamina propria vedoucí k fibróze orální mukózy a submukózy s atrofií epitelu, mající zvýšené riziko maligního zvratu. Mohou být zasaženy i nižší etáže orofaryngu a horní třetina jícnu [67–69]. Mezi subjektivní projevy patří pocity pálení úst a intolerance kořeněných jídel. Úvodní klinické projevy jsou kožený vzhled mukózy, bledost, ztráta jazykových papil, petechie a místy i vezikuly. Postupnou progresí onemocnění se tvoří vazivové pruhy v oblasti rtů, tváří a měkkého patra vedoucí k limitaci otevírání úst a motility tkání [70]. Zdá se, že onemocnění vykazuje familiární výskyt s možnou geneticky podmíněnou zvýšenou tendencí k rozvoji tohoto onemocnění [71]. Jako možné rizikové faktory byly označeny autoimunitní vlivy, karence vitamínu B, C a železa, nadměrná konzumace kořeněných jídel, HPV infekce, genetické mutace a zejména žvýkání betelu [72–77]. Onemocnění je děleno dle závažnosti projevů do pěti stádií [70].

2.3.5.5. Orální lichen planus

Toto onemocnění je charakterizováno výskytem bílých retikulárních skvrn v oblasti bukalní mukózy, na jazyku a gingivě [78]. V těžších formách se může projevovat jako erozivní až ulcerovaná ložiska. Navzdory tomu, že se jedná o relativně časté neinfekční onemocnění dutiny ústní, etiologické faktory zatím stále nejsou zcela jasné [79–83]. Malignizační potenciál se zdá být vyšší spíše u lichenoidních lézí, nicméně i orální lichen planus může malignizovat oproti zdravé sliznici relativně častěji [84]. Diagnostika tohoto onemocnění je rovněž klinická a histopatologická [80,85,86] a měly by být jednoznačně odlišeny jiná onemocnění s podobnými projevy (lichenoidní léze, orální lichenoidní lékové reakce, orální lichenoidní kontaktní hypersenzitivní reakce, lichen planus pemphigoides, chronická ulcerativní stomatitida, graft versus host disease, lichen sclerosus, lupus erythematosus či časná stádia proliferativní verukózní leukoplakie) [80,85–88]. Ke správnému stanovení diagnózy napomáhají následující diagnostická kritéria vycházející ze zmíněných publikací [80,85,86,89]:

Klinická kritéria: Přítomnost bilaterální, víceméně symetrické bělavé léze krajkovitého vzoru (retikulární, anulární nebo lineární), v úrovni povrchu nebo lehce nad, může být erozivního až ulcerativního charakteru, někdy vzhledu deskvamativní gingivitidy, postihující sliznici tváře a/nebo jazyk, ret či gingivu.

Histopatologická kritéria: Přítomnost dobře definovaného pruhovitého převážně lymfocytárního infiltrátu, který je omezen na povrchovou část pojivové tkáně. Znamky vakuolární degenerace bazálních a/nebo suprabazálních buněčných vrstev s apoptózou keratinocytů. U atrofického typu dochází k ztenčení epitelu a někdy k ulceraci způsobené selháním regenerace epitelu v důsledku destrukce bazálních buněk. Může být rovněž nalezen i smíšený zánětlivý infiltrát.

2.3.5.6. Aktinická cheilitida

Jak název napovídá, onemocnění je způsobeno dlouhodobým vystavením kůže, zejména dolního rtu a retní červeně, slunečnímu záření, přesněji jeho ultrafialovému spektru. Postihuje nejčastěji muže středního věku světlého fototypu dlouhodobě exponované slunečnímu záření [89]. Může být ve formě lokalizovaných nebo difuzních bělavých vločkovitých nebo šupinatých ploch promísených s červenými okrsky [90]. V lehkých případech se projevuje jen jako suchost rtů [91]. Podstatou bílých ploch je hyperkeratóza, zatímco červené plochy jsou způsobené atrofií epitelu až jeho erozí s prosvítáním kapilár. Bez ohledu na histologický grade nelze zcela jistě predikovat pravděpodobnost progresu [92]. V histologickém obraze je pak možné nalézt atrofii či hyperplázii epitelu, narušenou maturaci keratinocytů, buněčné atypie a zvýšenou mitotickou aktivitu. V lamina propria je často zastížen obraz bazofilní degenerace kolagenu, elastóza a vazodilatace [93–95], někdy je zastížena lichenoidní zánětlivá reakce a histopatologická diagnóza je v tomto případě lichenoidní aktinická keratóza. Důležité je v tomto případě diferenciativně diagnosticky odlišit benigní lichenoidní keratózu. V některých studiích odhalila probatorní biopsie počínající OSCC až ve 25 % případů [93]. Literární review však neodhalila určitou míru pravděpodobnosti rozvoje invazivního OSCC z aktinické cheilitidy [96].

2.3.5.7. Palatinální léze reverzních kuřáků

V případě reverzního kouření je hořící konec cigarety držen kuřákem uvnitř dutiny ústní. Tento typ kouření je populární v Indii, Karibských Ostrovech, Latinské Americe, Sardinii, a některých ostrovech v Pacifiku, například na Filipínách [93]. Takto častěji vznikají malignity na tvrdém patře, a to zhruba v 50 procentech případů, na rozdíl od ostatních OPMD, které tvrdé patro postihují zřídka. Klinický obraz je ve formě plochých či nodulárních bílých ploch lokalizovaných na tvrdém patře, bývají zvýrazněné ústí malých slinných žláz, povrch je většinou žlutohnědě pigmentován, v okolí může být přítomný erytém a postupně dochází až k ulceraci [97].

2.3.5.8. Orální lupus erythematos

Jedná se o chronické autoimunitní onemocnění, které je možné rozdělit na 4 podkategorie – 1) systémovou formu, 2) léky navozenou formu, 3) kožní formu a 4) neonatální formu. Zhruba u 20 % pacientů se systémovou formou se vyskytují rovněž orální projevy, které mají podobný charakter jako u orálního lichenu. Histopatologická a klinická kritéria pro tuto diagnózu jsou zmiňována například v citované publikaci. Typický projev je centrálně cirkulárně atrofická mukóza s povrchovou ulcerací obklopená bělavými liniemi [98]. Nejčastěji se vyskytuje na tvářové sliznici, patru a rtech. Intraorálně se maligně zvrhává relativně vzácně, častěji však na rtech [99].

2.3.5.9. Dyskeratosis congenita

Někdy je nazývána též Zinnser-Cole-Engmanův syndrom, má hereditární podklad a to hned v oblasti několika genů majících funkci udržení a zachování funkce telomer, jako například gen DKC1 kódující ribonukleoprotein dyskerin [100,101]. Toto onemocnění může být děděno gonozomálně (vazba na gen X) nebo autozomálně dominantně i recesivně [102]. Společným znakem je, jak již bylo řečeno, porucha udržení telomerů mající za následek častější vznik malignit [103]. Postihuje častěji chlapce a projevuje se již v pubertě nejrůznějšími projevy, jako jsou pigmentce kůže, porucha růstu kostí, osteoporóza, leukoplakie ústní sliznice a jiné. Prognóza je většinou špatná vzhledem k malignizaci slizničních změn či selhání funkce červené kostní dřeně [104,105].

2.3.5.10. Orální lichenoidní léze

Tato skupina onemocnění se podobá orálnímu lichenu, nicméně postrádá některé klinické a/nebo histopatologické znaky, například se může vyskytovat unilaterálně [81,86,106]. Patří sem orální lichenoidní kontaktní reakce (často vedle zubu s amalgámovou výplní)[85,107], lichenoidní lékové reakce [85], orální změny vznikající na podkladě příjmu určitých typů jídla a koření (například skořice, betel) a změny v rámci graft versus host disease. V některých případech je klinické rozlišení mezi orálním lichem a lichenoidní lézí velice obtížné [89]. Na základě systematické review [84] bylo zjištěno, že malignizační potenciál orálního lichenu a orálních lichenoidních lézí je více či méně podobný, nicméně určité procento publikací udává vyšší potenciál u lichenoidních lézí. Aktuálně je pracovní skupinou WHO doporučeno vyvarovat se termínu „orální lichenoidní dysplazie“ a v případě přítomnosti dysplazie používat termín „orální epitelální dysplazie s lichenoidními znaky [108].

2.3.5.11. Orální graft versus host disease

K tomuto onemocnění dochází u pacientů po transplantaci allogenních kmenových buněk kostní dřeně [109], může mít akutní i chronickou formu. Změny orální mukózy lichenoidního vzhledu byly zaznamenány zhruba u 90 % pacientů po transplantaci [110][111]. V odborné literatuře byla publikována řada kazuistik popisujících vznik OSCC z lichenoidních lézí u těchto pacientů [112–116]. Zejména chronická multisystémová forma GVHD má signifikantně vyšší riziko vzniku solidních tumorů, z toho nejvíce OSCC za jeden rok a více po transplantaci. Existuje podezření na výrazný vliv dlouhodobé imunosupresivní terapie u pacientů s chronickou formou GVHD na vznik OSCC. K jeho potvrzení bude však potřeba ještě další výzkum [117].

2.3.5.12. Onemocnění, která mají omezenou nebo nedostatečnou epidemiologickou evidenci ohledně malignizačního potenciálu

Dle WHO Collaborating Centre for Oral Cancer existují tři onemocnění, která jsou pravděpodobně zatížena rizikem malignizace. Jedná se o epidermolysis bullosa, chronickou hyperplastickou kandidózu a exofytickou verukózní hyperplazii. Níže jsou popsána jednotlivá onemocnění, dostupné údaje a kontroverze týkající se těchto poruch.

2.3.5.12.1. Orální epidermolysis bullosa

Již v roce 2007 byla zařazena do klasifikace OPMD. V literatuře byly popisovány případy výskytu OSCC u recesivního dystrofického typu epidermolysis bullosa, nicméně specifické potenciálně maligní léze v oblasti ústní sliznice nejsou v odborné literatuře dobře popsány. Na základě revize dostupných znalostí pracovní skupina WHO nedoporučuje zařazení tohoto onemocnění mezi OPMD [117].

2.3.5.12.2. Chronická hyperplastická kandidóza

Jedná se o chronické onemocnění kvasinkou nejčastěji *Candida albicans*, které se projevuje adhezujícími bílými povlaky na sliznici dutiny ústní. Může však být i ve formě nehomogenních smíšených červenobílých ploch, nejčastěji postihující ústní koutky a přední část bukální sliznice a též dorzum jazyka [118,119]. Je experimentálně prokázáno, že *Candida* způsobuje epiteliální hyperprolieraci a je často mikroskopicky zachycena současně s obrazem až těžké slizniční dysplazie [120–123]. Jeden z možných vlivů *Candid* na kancerogenezi je produkce acetaldehydu z alkoholických nápojů, dále je známý problematický candidalysin, což je cytotoxický peptid tvořený *Candidou albicans*, který interaguje s receptorem epiteliálního růstového faktoru (EGFR) a může tím zvýšit buněčnou prolieraci [124,125].

2.3.5.12.3. Exofytická verukózní hyperplázie

Toto onemocnění bylo poprvé popsáno v roce 1980 a identifikováno jako prekurzor verukózního karcinomu [59,126]. Častěji se vyskytuje v populaci užívající betel a arecu [127,128]. Může mít formu exofytickou s masitě papilárním či verukózním zjevem, růžového či bělavého povrchu, nebo formu bělavého verukózního náletu. Klinicky bývá těžko rozlišitelná od verukózního nebo spinocelulárního karcinomu. Často se vyskytuje současně s orální submukózní fibrózou na tvářové sliznici, dolním rtu, jazyku a měkkém patře, někdy i na gingivě. Diagnostika je klinicko-patologická [127]. Může se jednat i o sekundární projev orální submukózní fibrózy, dle pracovní skupiny WHO bude zapotřebí shromáždit více dat ohledně epidemiologie tohoto onemocnění [129].

2.3.6. Malignizace mukózy normálního vzhledu

Karcinom se může vyvinout i ze sliznice makroskopicky normálního vzhledu, čemuž odpovídá teorie plošné kancerizace v místě buněk obsahujících molekulární genetické aberace, mající za následek vyšší riziko vzniku zhoubného nádoru [118,130]. Plošná kancerizace je popisována v okolí již existujících invazivních spinocelulárních karcinomů, prvně byla tato teorie postulována v roce 1953 [131]. Termín „plošná kancerizace“ je charakterizovaný fenotypovými a genotypovými změnami v sousedství nádorů, zatímco pojem „plošné změny“ by měl být používán v případě známek malignizace sliznice bez existence okolního invazivního karcinomu [131]. Tyto plošné změny postupně nahrazují normální epiteliální buňky, podstatou jejich nekontrolovaného růstu je mutace tumor supresorového genu TP53, což ale nebývá rutinně monitorováno [132,133]. Schopnost detekce takovýchto změn dostupnými optickými vyšetřovacími technikami zatím nebyla vědecky spolehlivě dokázána a v tomto směru je zapotřebí dalšího výzkumu [134,135]. Pomocí detekce různých markerů (TP53, cytokeratin a jiné) v histologických či cytologických vzorcích sliznice zdravého vzhledu u pacientů trpících OSCC bylo ale možno odhalit ložiska plošných změn [105,136,137]. Nicméně jednoznačný marker, který by spolehlivě vypovídal o nebezpečí rozvoje invazivního spinocelulárního karcinomu zatím stále nebyl nalezen. Za tímto účelem je nutné dále pokračovat ve výzkumu buněčných změn na molekulární úrovni.

2.3.7. Syndromy způsobující zvýšený výskyt OSCC

Je popsáno ke dvaceti hereditárních syndromů, které způsobují hematologické či solidní malignity s vyšší frekvencí a i v mladším věku. Mezi nejznámější patří například Fanconiho anémie, xeroderma pigmentosum, Li Fraumeni syndrom, dyskeratosis kongenita, Bloomsův syndrom, ataxia teleangiectatica a Cowdenův syndrom. Ze všech těchto syndromů má nejvyšší riziko vzniku OSCC právě Fanconiho anémie, u které je toto riziko 500 až 700x vyšší než u zdravé populace [138]. Mnoho z těchto syndromů je způsobeno mutací v oblasti tumor supresorových genů či genů zajišťujících opravu DNA [139]. Rovněž některé nehereditární genové mutace mohou vést ke zvýšenému výskytu OSCC, zatím však nebyla identifikována jednoznačná mutovaná genová sekvence [140]. V souvislosti s výše uvedenými genovými odchylkami dochází k aktivaci protoonkogenů (ROS1, ras, myc, MET, EGFR, Bcl-2 apod.) [141–145] a inhibici tumor supresorových genů (ANXA1, SPINK5, TP53, pRb, p16 apod.) [146–149]. Jejich známý počet s progresem výzkumu v této oblasti stále stoupá, společným znakem je ve většině případů zásadní vliv na buněčnou proliferaci a apoptózu [150].

2.3.8. Chromozomální a genomická nestabilita, aneuploidie, ztráta heterozygoty

2.3.8.1. Aneuploidie

Jedná se o kvantitativní změnu obsahu buněčné DNA oproti diploidnímu stavu, může být na chromozomální nebo genové úrovni. Amplifikace obecně umožňují lepší přežití mutovaných buněk než delece, které většinou vedou k apoptóze [151]. Jakožto možná příčina vzniku malignity byla odhalena již v 60. letech minulého století, v případě OSCC o dekádu později [152–155]. Aneuploidie vzniká jednak vystavením buněk kancerogenům, ale i v průběhu stárnutí [156]. Abnormální obsah DNA je často přítomen v buňkách OPMD, ale též i v ložiscích plošné kancerizace a normálně vyhlížejícím epitelu v okolí OSCC [157–160]. Detekce aneuploidie je možná pomocí FISH nebo flow a obrazové cytometrie [161–164]. Analýza DNA ploidie má s ohledem na riziko maligní transformace dobrou výpovědní hodnotu, zejména velice vysoký negativní prediktivní faktor umožňuje odhalit případy s minimálním rizikem a vyhnout se tak zbytečným intervencím [49].

2.3.8.2. Ztráta heterozygoty

Tento stav vede ke vzniku maligního onemocnění v případě, že je mutace či delece alely v místě tumor supresorového genu, kterých je v každé somatické buňce zhruba 40. Ke ztrátě heterozygoty může dojít v případě, že jedinec je v oblasti inkriminované alely heterozygotem, to znamená, že například od jednoho z rodičů zdědil zmutovanou a nefunkční alelu, která neumožňuje syntézu tumor supresorového proteinu, je tedy v tomto smyslu heterozygotem. Pokud dojde v průběhu života ke ztrátě či mutaci doposud funkční alely, stane se monozygotem a ztratí schopnost produkovat konkrétní tumor supresorový protein, což může vést k propuknutí maligního onemocnění [165]. Tento stav byl dobře popsán na familiárním retinoblastomu, kde postižený jedinec nese mutaci v místě genu RB1 lokalizovaného 13q14.1-q14.2, který byl prvním popsáním tumor supresorovým genem [166]. Ztráta heterozygoty v tomto případě vede k časnému vzniku retinoblastomu. Existuje rovněž i teorie dvou zásahů, kde u jedince s původně funkčním párem alel dojde postupně k jejich vyřazení se stejným efektem ztráty heterozygoty [165]. Detekce se provádí formou PCR [167,168] a může být využita jako časná prediktor maligní transformace u OPMD [169,170]. V obou případech se jedná o známky buněčné chromozomální instability, které souhlasně vypovídají o riziku vzniku maligního onemocnění. Tato metoda však nemá zatím dostatečně vysokou pozitivně prediktivní

hodnotu, aby bylo možno na jejím základě určit individuální terapii. Vysoká negativní prediktivní hodnota naproti tomu umožňuje identifikovat pacienty s OPMD, kteří mají minimální riziko a zabránit tak excesivním intervencím a dlouhodobé dispenzarizaci [151].

2.4. Diagnostika OSCC

Definitivním potvrzením diagnózy je výsledek histologického vyšetření bioptického vzorku. Následující popsané vyšetřovací metody mají za úkol včas vyslovit suspekci na malignitu a stanovit její rozsah.

2.4.1. Klinické vyšetření

Orofaciální oblast je exponovanou částí lidského těla, která je dobře vyšetřitelná pomocí základního klinického vyšetření. Zejména pohled a pohmat je klíčový k ideálně časně detekci nádorových změn dutiny ústní. Takovéto vyšetření by mělo být součástí základních preventivních prohlídek, nemělo by být opomíjeno praktickými lékaři ani jinými specialisty a zejména stomatologové mohou zásadně přispět k časně detekci závažného onemocnění a výrazně tak zvýšit prognostické vyhlídky pacienta. Vyšetření je rychlé, nezatěžující a má relativně vysokou úspěšnost záchytu nádorových změn, je-li prováděno správně a úplně. Důležité je postupovat při vyšetřování systematicky a prohlédnout veškerý povrch kůže a sliznice orofaciální soustavy dostupný přímému pohledu, palpací zhodnotit stav svodné krční lymfatické uzliny, ale i odhalit případné podslizniční rezistence v ústní dutině. Vhodně kladené dotazy při odebrání anamnézy mohou dále více napomoci v diagnostice a lze též odhalit případná rizika a eventuálně přispět k zařazení pacienta do dispenzární rizikové skupiny [171]. I přes skutečnost, že lékařská péče je ve většině civilizovaných zemí dostupná a kvalitní, velice často se setkáváme s neblahým trendem prvního záchytu malignity až v pokročilejším stádiu [172]. Na vině je především nedostatečná osvěta a povědomí populace o tomto nebezpečném onemocnění, ale i nezodpovědný přístup zdravotníků v první linii k úplnému klinickému vyšetření orofaciální soustavy. Nádorové změny bývají často skryté v záhybech sliznice dutiny ústní, zejména na spodině úst a jazyku a při zběžné prohlídce mohou být snadno přehlédnuty [173].

2.4.2. Zobrazovací vyšetřovací techniky

Před zahájením adekvátní terapie OSCC je nezbytně nutné nejen znát povahu onemocnění, která je ověřena histologicky, ale také přesný staging, čehož je možné dosáhnout v současné době jedině s pomocí pokročilých zobrazovacích vyšetření. Protokol použití jednotlivých zobrazovacích vyšetřovacích metod se může lišit u jednotlivých případů v závislosti na lokalizaci a rozsahu onemocnění, stavu pacienta a předpokládané terapii, nicméně téměř vždy se jedná o použití ultrasonografie (USG), výpočetní tomografie (CT), magnetické rezonance (MR), hybridních nukleárních metod (PET/CT, PET/MR) či jejich kombinace s použitím různých kontrastních látek.

Nádory orofaciální soustavy jsou díky anatomickým poměrům většinou blízko kostní tkáni a zejména pro plánování chirurgické terapie je potřeba znát přesný vztah tumoru ke kosti. V případě ověření zasažení kosti nádorem má multidetektorové spirální CT udávanou vysokou specifitu (87 – 90 %), MR má sice vyšší senzitivitu (96 – 97 %) a negativní prediktivní hodnotu, ale specifita MR k ozřejnění kostní invaze je jen asi 54 %. Z tohoto hlediska je pro zobrazení stavu nádoru vhodnější použití spirálního CT [174]. Nevýhoda obou vyšetřovacích metod je omezení kvality obrazu metalickými artefakty. U CT je možno tento jev zčásti potlačit reangulací gantry, otevřením úst pacienta při snímkování a použitím digitální redukce metalických artefaktů [175]. V případě CT je pro zvýšení přehlednosti

doporučováno provádět vyšetření s ústy naplněnými vzduchem [176]. Pomocí těchto vyšetření lze relativně dobře určit lokoregionální rozsah nádoru včetně hloubky invaze, známek výraznější perineurální invaze, přítomnosti metastáz v oblasti svodné krční lymfatické a případné nebezpečí extranodální expanze a již zmiňovanou kostní invazi [177–182]. Pro nádory v oblasti jazyka je vyšetřením s největší výpovědní hodnotou magnetická rezonance [174,183–188].

S ohledem na aktuální verzi metodiky stagingu – osmé vydání TNM klasifikace publikované Mezinárodní unií proti rakovině (UICC) a Americkým výborem proti rakovině (AJCC), platné od 1. 1. 2017, která dle sdělení ČSÚ č. 465 ze dne 15. prosince 2017 vešla v ČR v účinnost dne 1. 1. 2018, je kladen větší důraz na zhodnocení hloubky invaze (DOI) a extrakapsulární expanzi v případě lokoregionálních metastáz (ENE), neboť obě hodnoty mají vliv na zhodnocení stadia onemocnění a tím potažmo i léčebnou strategii [189,190].

Předoperační zhodnocení DOI je pomocí zobrazovacích metod často svízelné. Důležité je rozlišovat termíny tloušťka tumoru a hloubka invaze, neboť se nejedná o synonymum. DOI je definována jako vzdálenost nádorových buněk směrem pod bazální membránu epitelu, kdežto síla tumoru zahrnuje i exofytickou složku, tedy prominující nad bazální membránu [191]. Rozlišit DOI a tloušťku tumoru je přesněji možné pouze pomocí histologického vyšetření, zobrazovací techniky jsou schopné určit DOI jen přibližně, lépe je patrná celková tloušťka tumoru [192,193]. Ve studii publikované v roce 2017 bylo porovnáno určování stagingu nádoru pomocí DOI a tloušťky tumoru a bylo zjištěno, že téměř u 80 % případů byl rozdíl mezi těmito dvěma způsoby hodnocení T stagingu méně jak 1 %. Z tohoto důvodu autoři uvádějí možnost použití tloušťky tumoru jako validní prognostický faktor [194]. Určení DOI/tloušťky tumoru pomocí CT a MR se ukázalo být méně přesné než při použití USG, z tohoto důvodu je USG v tomto ohledu preferovanou modalitou [195,196]. V oblasti jazyka a spodiny dutiny ústní se jako důležitý prognostický faktor stran nebezpečí existence lymfatických metastáz dá mimo parametr tloušťky tumoru rovněž použít paralinguální rozměr – vzdálenost tumoru od paralinguálního prostoru, který je definován jako prostor mezi musculus geniohyoideus a hyoglossus, jímž probíhá linguální arterie a vena. Okura et al. postuloval, že při tloušťce nádoru větší než 9,7 mm a paralinguální vzdálenosti menší jak 5,2 mm existuje 20% riziko okultních metastáz a Moudar et al. určil jako rizikový prediktor krčních metastáz tloušťku tumoru větší jak 13,8 mm a paralinguální rozměr menší nebo rovný 3,3 mm [197,198].

Dalším kritériem hrajícím důležitou roli v určení stadia onemocnění dle 8. vydání TNM klasifikace je, jak již bylo řečeno, ENE. Jedná se spíše o histopatologickou či klinickou charakteristiku, nicméně i pomocí zobrazení je možné zhodnotit makroskopickou přítomnost ENE. Mohou být přítomné některé nepřímé známky ENE, jako je připojení perinodálního tuku, infiltrace do okolního tuku, svalů a jiných tkání, dále projevy dysfunkcí blízkých nervů a svalů. Ke zhodnocení ENE byly zkoumány různé zobrazovací techniky a na základě některých studií je patrné, že známky ENE je možné detekovat jak na CT, tak i na MR a USG. Zdá se, že při rozlišování ENE pozitivních a negativních metastáz má USG stejnou senzitivitu jako MR, má však vyšší specificitu. V tomto ohledu je tedy vyšetření pomocí USG výhodnější [199–201]. V oblasti krku je však důležité nejen rozlišení ENE, ale obecně přítomnost vlastních metastáz. Přítomnost solitární krční metastázy totiž snižuje míru přežití o 50 %, kontralaterální metastáza navíc snižuje procento přežití na 30 % [202]. Většina orálních karcinomů metastazuje dle lokalizace primárně do krčních prostorů I, II a III, nicméně skip metastázy v prostorech IV a V se mohou vyskytovat až v 10 % případů [203–205]. Mezi grafické známky přítomnosti metastáz patří zejména vymizení hilu, kulovitý tvar,

známky cystické přestavby či nekróza, která má sama o sobě specificitu mezi 95 a 100 %, a to i u uzlin menších než jeden centimetr [206].

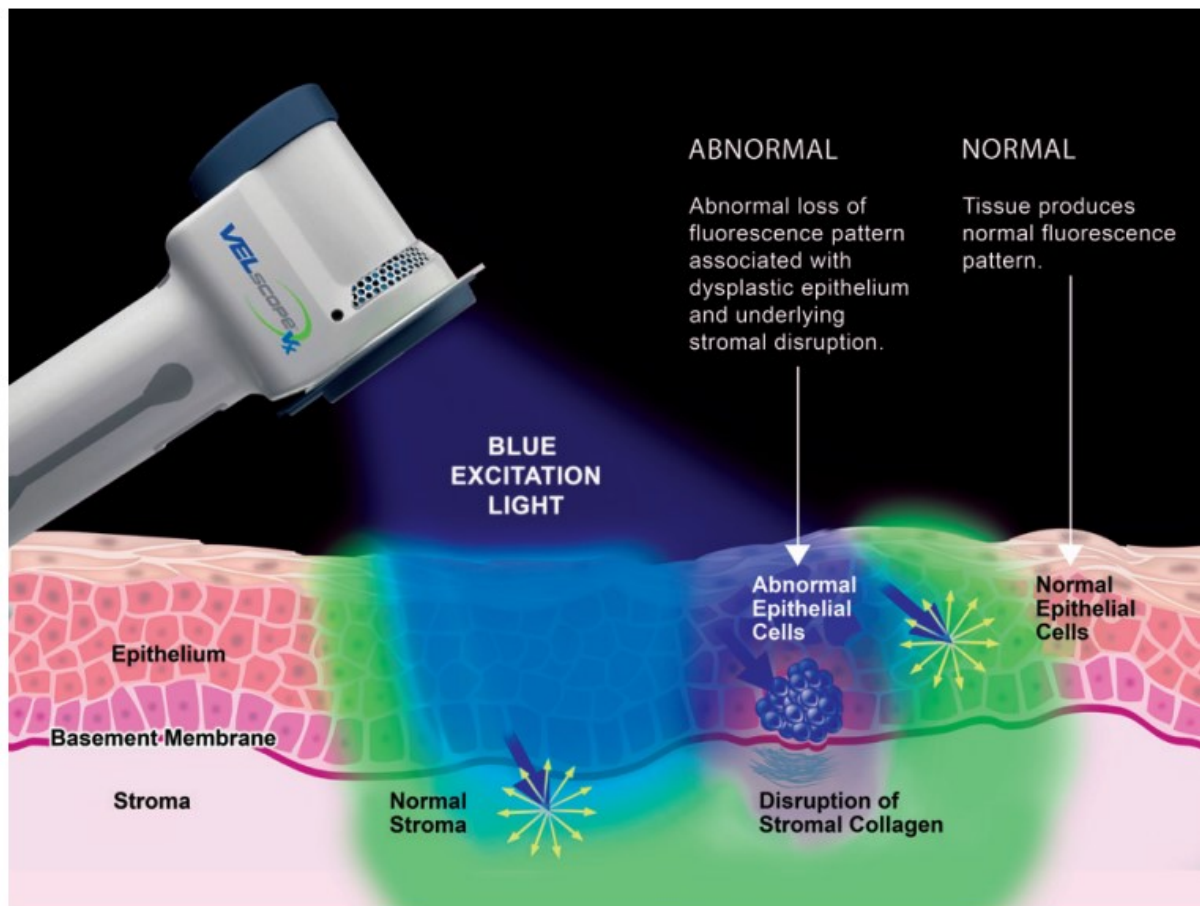
Popisované typy zobrazovacích metod jsou dostatečné pro určení stagingu a plánování léčby. V oblasti porozumění biologii nádoru, zhodnocení prognózy, odhadu odpovědi na léčbu a míře rekurence však nedostačují. V této oblasti se ukazují účinnější molekulárně/funkční metody, jako je difuzně vážená MR, perfuzní MR, MR spektroskopie a perfuzní CT s cílenou PET sondou, které umožňují zobrazit tumor na celulární a subcelulární úrovni [207,208]. Rovněž hybridní zobrazovací metody (PET/CT a PET/MR) s použitím různých kontrastních látek umožňují lépe stanovit aktivitu a rozsah nádorového onemocnění. Mimo standardně používanou fluorodeoxyglukozu (FDG) se zkoumají a v klinické praxi používají i jiné kontrasty jako například fluorothymidin (FLT) nebo galiem značený fibroblasty aktivující protein (Ga-FAPI), neboť mají schopnost zobrazit nádorové buňky a případné metastázy s větší senzitivitou i specificitou [209]. I přes použití sofistikovaných kontrastních látek v oblasti hybridních zobrazovacích metod zatím není možné spolehlivě zabránit zejména falešně pozitivním výsledkům vyšetření a plošné použití těchto vyšetřovacích metod u všech pacientů trpících OSCC zatím není opodstatněné [210–212]. V současné době dynamicky se rozvíjející obor umělé inteligence a koncept deep learningu přináší celou řadu možností v zlepšení diagnosticko/terapeutických možnostech léčby OSCC [213,214].

2.4.2.1. Optické vyšetřovací techniky

Jedná se o vyšetřovací metody zkoumající kvalitu povrchu tkání do hloubky maximálně několik milimetrů, využívající různých technik, jak je popsáno níže.

2.4.2.1.1. Přirozená autofluorescence

Přímá autofluorescence je technika vyvinutá a používaná od počátku nového tisíciletí primárně pro screening, nebo pro lepší identifikaci potenciálně maligních změn ústní sliznice. V roce 2006 byl v Kanadě zaregistrován systém VELscope a téhož roku také certifikován FDA v USA. Podobně jako některé jiné systémy pracující na principu přirozené autofluorescence (Identafi 3000, Sapphire Plus Lesion Detection) využívá přístroj VELscope neinvazivní metodu vyšetření pomocí koncovky emitující jasně modré světlo (400–460 nm), umožňující přímou vizualizaci ústní sliznice v reálném čase. Ozáření sliznice tímto monochromatickým světlem vede k excitaci endogenních mukózních a submukózních fluoroforů (tabulka 3) [215], které zelenkavě fluoreskují, a tuto fluorescenci lze registrovat přes semipermeabilní filtr koncovky (obrázek 2). Přítomnost fluorescence je charakteristická pro zdravou sliznici. Viditelná ztráta fyziologické fluorescence značí dysplastické změny epitelu, ale lze ji pozorovat také u hyperémie, traumatizace, hyperkeratózy a dalších benigních změn, což do jisté míry snižuje specificitu [216–219]. Dobře provedené základní vyšetření, správně odebraná anamnéza a vyšetření prováděné zkušeným odborníkem výrazně snižuje zkreslení způsobené některými benigními stavy (například zánět s doprovodnou hyperémií či samotnou hyperémií způsobující výbled fluorescence lze částečně odlišit stlačením sliznice s následnou anemizací a dočasnou obnovou fluorescence). Tento problém je v níže popisované studii též do značné míry odbourán známou povahou vyšetřovaných patologických slizničních změn. Toto vyšetření je technicky jednoduché, zcela neinvazivní, lze ho bez omezení opakovat, je levné a na naší klinice již několik let používané pro screening potenciálně maligních slizničních změn. Z těchto důvodů jsme tuto techniku vybrali pro provedení níže popsaného výzkumu. V naší studii tedy hodnotíme hypotézu, že použití přímé autofluorescence (systém VELscope) zvyšuje schopnost dosáhnout patologicky volného okraje (pFM).



Obrázek 2 - Schématický náčrt principu metody přímé autofluorescence (Převzato z <https://velscope.com/wp-content/uploads/2022/04/Sell-Sheet-Mar-31-2022-Rev-D.pdf>)

Tabulka 3 - Nejčastější fluorofory orální mukózy

<i>Molekula</i>	<i>Excitace / nm</i>	<i>Fluorescence / nm</i>
NAD(P)H	340	450
Kolagen	270 - 400	305 - 450
Melanin	340 - 400	360 - 560
Flavin	380 - 490	520 - 560
Glykační adukty	370	450

2.4.2.1.2. Kontaktní endoskopie

Umožňuje in vivo mikroskopické vyšetření sliznice horního aerodigestivního traktu rigidním endoskopem. Je to neinvazivní technika a poskytuje informace o mikroskopické diagnóze a okrajích lézí. V diagnostice malignity je u kontaktní endoskopie uváděna senzitivita 80 %, specificita 100 % a přesnost 93 % [220–222].

2.4.2.1.3. Narrow band imaging

Jedná se o videoendoskopický systém s úzkopásmovými filtry, který umožňuje průchod pouze dvou specifických pásem viditelného spektra, které odpovídají absorpčnímu vrcholu hemoglobinu. Filtrované vlnové délky zvyšují viditelnost mikrovaskulárních abnormalit spojených s preneoplastickými a neoplastickými změnami slizniční výstelky horního aerodigestivního traktu [223–225].

2.4.2.1.4. Barvení Lugolovým roztokem nebo toluidinovou modří

Jde o metody, které mohou přispět k lepší identifikaci skutečného rozsahu nádorových změn pomocí obarvení patologicky změněných buněk a tím snížit procento pozitivních okrajů [226–230]. Vitální barvení využívá zvýšenou afinitu některých barviv k určitým buněčným strukturám přítomným ve zdravých či dysplastických nebo maligních buňkách, takže jsou zřetelnější. V případě barvení toluidinovou modří se využívá afinity tohoto barviva k DNA a RNA, která je ve větší míře přítomna v maligních buňkách a tím jsou ložiska již invazivní malignity, karcinomu in situ (CIS) či dysplazie obarveny do modra [231]. Lugolův roztok (vodný roztok jodu a jodidu draselného) se váže na glykogen běžně přítomný ve zdravých buňkách orální mukózy, které barví do hněda. Maligní buňky obsahují velice málo glykogenu a tudíž k jejich obarvení nedojde vůbec nebo jen málo [232].

2.4.2.1.5. Otisková cytologie

Použití intraoperační dotekové otiskové cytologie sice není klasická optická vyšetřovací technika, ale je rovněž relativně rychlá, jednoduchá a nezvyšující operační zátěž. Podstatou tohoto vyšetření je otisk resektátu (někdy i lůžka tumoru) na mikroskopické sklíčko s následným cytologickým vyšetřením. Senzitivita tohoto vyšetření se pohybuje přes 90 %, specificita pak více jak 74 %, pozitivní prediktivní faktor je v citované studii 79,2 % a negativní prediktivní faktor je 88,6 %, což jsou výsledky, díky nimž je vhodné pro přehled zařadit i tuto techniku mezi zde zmiňované [233].

2.4.2.1.6. Optická koherentní tomografie (OCT)

Je další technikou, která může pomoci v rozlišení skutečného rozsahu nádoru a tím i stanovit bezpečnou resekční linii. Díky pronikavému infračervenému záření dokáže v řádu mikrometrového rozlišení velice přesně zobrazit tkáň až do hloubky 1 – 3 mm. Získané transversální průřezy tkáně je pak možno skládat do trojrozměrného obrazu. Udávaná senzitivita a specificita je 81,5 %, respektive 87 % s pozitivním prediktivním faktorem 61,5 % a negativním pozitivním faktorem 95 % [234–236].

2.4.2.1.7. Úhlově rozlišená interferometrie s nízkou koherencí

Tato primárně metrologická metoda dokáže pomocí laseru přesně měřit buněčné struktury, oblastí zájmu je zejména buněčné jádro, na mikro- až nanometrské úrovni do hloubky až 500 mikrometrů. Oproti OCT poskytuje objektivnější interpretaci obrazu pomocí okamžitého procesorového zpracování. Popisovaná senzitivita dosahuje až 100 %, specificita pak 85 % [237–240].

2.4.2.1.8. Tkáňová reflektance

U tkáňové reflektance je využíváno odlišných reflexních vlastností zdravé a patologicky změněné sliznice. K osvětlení povrchu sliznice je využívána chemiluminiscenční tyčinka fungující na peroxy-oxalátovém principu, emitující světlo o vlnových délkách 430 až 580 nm. Před vyšetřením je sliznice opláchnuta roztokem kyseliny octové a jsou pozorovány rozdíly v odrazivosti sliznice, přičemž zdravá sliznice světlo pohlcuje a naopak patologicky změněná odráží. Hlavním zdrojem zvýšené odrazivosti je zvýšený nukleo-cytoplazmatický poměr abnormálních buněk. Toto vyšetření je možno pro zvýšení účinnosti kombinovat s barvením toluidinovou modří, v tomto případě dosahuje senzitivita vyšetření 95 % a specifická 76 % [241].

2.4.2.1.9. Optická spektroskopie

Optická spektroskopie umožňuje in vivo v reálném čase sledovat biochemické a morfologické změny tkání. Díky tomu lze detekovat maligní změny dříve, než začnou být makroskopicky viditelné. Vyšetření je rovněž minimálně invazivní, jednoduché, nezatěžující, relativně rychlé a pacienty dobře snášené [242]. Do této kategorie můžeme zařadit následující vyšetřovací metody:

2.4.2.1.10. Fluorescenční spektroskopie

Fluorescenční spektroskopie využívá schopností ve sliznici se přirozeně vyskytujících fluoroforů jako jsou například tryptofan, tyrosin, fenylalanin, kolagen, elastin, nikotinamid adenin dinukleotid (NADH), flavin adenin dinukleotid (FAD) a endogenní porfyriny. V některých případech se využívá i exogenního dodání porfyrinů ve formě 5-aminolevulinové kyseliny, jež je prekurzorem protoporphyrinu IX [243]. Pomocí spektroskopu jsou snímány a vyhodnocovány absorpční a excitační vlastnosti jednotlivých fluoroforů, výsledné spektrum pak poukazuje na stav sliznice na subcelulární úrovni a umožňuje stanovit povahu slizničních změn [244–246]. Některé studie udávají až 100% senzitivitu a specifickou [247].

2.4.2.1.11. Difuzní reflexní spektroskopie

Zde se širokopásmovým zdrojem světla (400 - 1600 nm) osvětluje sliznice a detekuje se spektrum rozptýleně odraženého světla, které je přímo závislé na struktuře osvětlené tkáně (maligní či dysplastická tkáň se vyznačuje odlišným nukleo-plazmatickým poměrem, tloušťkou epitelu, obsahem kolagenu a oxy- a deoxyhemoglobinu) [243,248–250]. Udávaná senzitivita a specifická této metody se pohybuje okolo 95 – 100% [248].

2.4.2.1.12. Ramanova spektroskopie

Neelastická rozptylová neboli Ramanova spektroskopie využívá principu excitace molekuly fotonem, přičemž molekula se dostává na vyšší energetickou hladinu a následně se nevrací na původní hladinu, nýbrž na vyšší (Stokesův rozptyl) nebo na nižší (Anti-Stokesův rozptyl). Energie uvolněná ve formě fotonu o pozmeněné energii oproti excitujícímu je pak následně detekována a analyzována. Tímto postupem je možné rovněž detekovat slizniční změny na subcelulární úrovni. Udávaná senzitivita a specifická jsou až 95 %, přesnost kolísá mezi 46 – 70 % [251–255].

2.4.2.1.13. Elastická rozptylová spektroskopie

Elastická rozptylová spektroskopie je na rozdíl od výše popsané charakteristická tím, že excitovaná molekula se dostává zpět na výchozí energetickou hladinu a vyzáří tak foton o

stejně energii, jako byla energie excitujícího fotonu. Tento jev se nazývá elastický neboli Rayleighův rozptyl. Tuto techniku je rovněž možné využít k rozlišení maligních a benigních lézí, přičemž udávaná specifická je 94 % a senzitivita 80 % [256–258].

2.5. TNM klasifikace

V současné době je platná 8. verze vydaná Unií pro mezinárodní kontrolu rakoviny (UICC), která vstoupila v platnost v České Republice dne 1. 1. 2018, nahradila tak 7. vydání platné od roku 2009 a došlo ke změnám, které se týkají i OSCC. Nadále je pro každou anatomickou lokalizaci udávána klinická (cTNM) a histopatologická (pTNM) klasifikace. Nově byla zařazena samostatná klasifikace pro p16 pozitivní karcinomy orofaryngu. V kategorii T došlo k zásadní změně v podobě zohlednění hloubky invaze tumoru, mající velký vliv na výsledné pT. Dále v kategorii N byla nově přidána modalita extranodální extenze (ENE).

TNM klasifikace pro karcinomy rtu a dutiny ústní dle 8. vydání UICC [259]:

Používané zkratky a symboly:

- T – rozsah primárního tumoru
- N – přítomnost a rozsah metastáz v regionálních lymfatických uzlinách
- M – přítomnost vzdálených metastáz
- (mi) - mikrometastáza – maximální rozměr do 0,2 cm
- (sn) - sentinelová uzlina
- ITC - izolované nádorové buňky, nemají charakter metastázy (proliferace a stromální reakce), bez vaskulární invaze. Kromě maligního melanomu a nádoru z Merkelových buněk by nález měl být klasifikován jako N0 či M0. Mohou být detekovány klasicky morfologicky (mikroskopie) – značí se (i) nebo nemorfologicky (DNA analýza, flow cytometrie) – značí se (mol)
- m - přítomnost mnohočetných primárních nádorů v jedné lokalitě
- y - určuje rozsah nádoru v konkrétní chvíli v průběhu či po skončení multimodální terapie
- r - rekurentní tumor po období remise
- a - klasifikace určena až při pitvě
- L - lymfatická invaze (LX, 0, 1)
- V - žilní invaze (VX, 0, 1 (mikroskopická invaze), 2 (makroskopická invaze))
- Pn - perineurální invaze (PnX, 0, 1)
- R - reziduální tumor (RX, 0, 1 (mikroskopický), 2 (makroskopický)) – zhodnocení úspěšnosti terapie

Klinická klasifikace TNM

T

- cTX primární nádor není možné hodnotit
- cT0 primární nádor nepřítomen
- cTis karcinoma in situ
- cT1 tumor je menší než 2 cm v největším rozměru a DOI je méně jak 5 mm
- cT2 tumor je menší jak 2 cm a DOI je větší jak 5 a menší jak 10 mm, nebo je tumor větší jak 2 a menší jak 4 cm a DOI je menší jak 10 mm
- cT3 tumor je větší jak 4 cm nebo je DOI větší jak 10 mm
- cT4a (ret) tumor invaduje přes kortikalis, nervus alveolaris inferior, spodinu dutiny ústní nebo kůži nosu či brady
- cT4a (dutina ústní) tumor invaduje přes kortikalis nebo do kůže obličeje
- cT4b tumor invaduje žvýkácí svaly, pterygoidální výběžky či bazi lební nebo obklopuje karotidu

N

- cNX regionální lymfatické uzliny není možné hodnotit
- cN0 metastáza v regionálních lymfatických uzlinách nepřítomna
- cN1 solitární ipsilaterální metastáza menší jak 3 cm v největším rozměru bez extranodální extenze (ENE)
- cN2a solitární ipsilaterální metastáza v lymfatické uzlině větší jak 3 cm a menší jak 6 cm bez ENE
- cN2b vícečetné ipsilaterální metastázy v lymfatických uzlinách menší jak 6 cm bez ENE
- cN2c bilaterální nebo kontralaterální metastázy v lymfatických uzlinách menší jak 6 cm
- cN3a metastáza v lymfatické uzlině větší jak 6cm bez ENE
- cN3b metastáza v lymfatické uzlině s klinickými známkami ENE (fixace lymfatické uzliny ke kůži či okolním tkáním nebo klinické známky poruchy blízkého nervu)

M

- cM0 bez vzdálené metastázy
- cM1 vzdálená metastáza

Patologická klasifikace TNM

T

- pT – shodné s klinickou klasifikací

N (při selektivní krční disekci požadováno vyšetření alespoň 10 lymfatických uzlin, při radikální či modifikované radikální disekci pak 15 lymfatických uzlin)

- pNX regionální lymfatické uzliny není možné hodnotit
- pN0 metastáza v regionálních lymfatických uzlinách nepřítomna
- pN1 solitární ipsilaterální metastáza menší jak 3 cm v největším rozměru bez extranodální extenze (ENE)
- pN2a solitární ipsilaterální metastáza v lymfatické uzlině menší jak 3 cm s ENE nebo větší jak 3 cm a menší jak 6 cm bez ENE
- pN2b vícečetné ipsilaterální metastázy lymfatických uzlinách menší jak 6 cm bez ENE
- pN2c bilaterální nebo kontralaterální metastázy v lymfatických uzlinách menší jak 6 cm
- pN3a metastáza v lymfatické uzlině větší jak 6 cm bez ENE
- pN3b metastáza v lymfatické uzlině větší jak 3 cm s ENE nebo vícečetné ipsilaterální nebo jakákoliv kontralaterální s ENE

M

Validní pouze pM1 (pM0 či pMX nejsou validní formy zápisu)

Staging

- Stage 0 - Tis N0 M0
- Stage I - T1 N0 M0
- Stage II - T2 N0 M0
- Stage III - T3 N0 M0
 - T1, T2, T3 N1 M0
- Stage IVA - T4a N0, N1 M0
 - T1, T2, T3, T4a N2 M0
- Stage IVB - jakékoliv T N3 M0
 - T4b jakékoliv N M0
- Stage IVC - jakékoliv T jakékoliv N M1

2.6. Prognostické faktory

Prognostické faktory lze všeobecně rozdělit dle asociace s vlastnostmi tumoru, podle individuálních charakteristik pacienta a dle poskytnuté a podstoupené terapie. Dále je možné je podle jejich závažnosti rozdělit na silné (hlavní) a slabé (vedlejší). V současné době je zkoumána celá řada různých molekulárně genetických prognostických faktorů, některé byly již zohledněny v terapeutických postupech (například exprese proteinu p16).

2.6.1. Tumor asociované prognostické faktory

Jedná se o faktory úzce související s vlastnostmi nádoru, některé jsou ve smyslu prevence velice těžko ovlivnitelné, jiné mohou být zásadně ovlivněné jak ze strany pacienta, tak ze strany ošetřujících specialistů.

2.6.1.1. Velikost primárního nádoru – T

Velikost nádoru v době diagnostiky je do jisté míry též ovlivněna lokalizací tohoto tumoru. Obecně lze říci, že nádory, které jsou lokalizované v místech snadno dostupných základnímu vyšetření či časně způsobují pacientovi subjektivní či objektivní obtíže, je možné zachytit v nižších stádiích. Velice důležitá je v tomto preventivním ohledu práce praktického lékaře a zejména stomatologa, neméně důležitá je však i osvěta, vnímání a compliance pacienta. Lokalita nádoru může rovněž ovlivnit míru a časnost metastazování, které má též zásadní vliv na stadium onemocnění [260,261]. Uváděné pětileté přežití se stoupajícím stadiem onemocnění výrazně klesá, procentuálně vyjádřeno je pak v I. stadiu 80 %, ve II. stadiu 65 %, ve III. stadiu 50 % a ve IV. stadiu pak jen 30 % [262,263]. Hodnota T nádoru je tedy určena, jak již bylo dříve zmíněno, především rozsahem primárního nádoru v milimetrech, kde v současné klasifikaci hraje důležitou roli i DOI a kostní invaze. V některých studiích je pak zmiňován též celkový objem tumoru jako další nezávislý prognostický faktor, kde každých 10 cm³ tumoru znamená nárůst rizika recidivy o 14 % [264].

2.6.1.2. Přítomnost a rozsah metastáz – N

Metastazování je známkou vysoké agresivity tumoru, u OSCC se děje nejčastěji prostřednictvím lymfatického systému, a to primárně do svodných lymfatických uzlin. Některé nádorové lokality nejsou k metastazování tolik náchylné (např. oblast rtu), jinde je metastazování časnější a častější, jako například spodina dutiny ústní a jazyk. Tato vlastnost má i dopad na budoucí terapii, neboť při zvyšujícím se riziku okultních metastáz při jinak klinicky negativnímu nálezu na svodných krčních lymfatických uzlinách se tyto elektivně disekují. S vzrůstající hodnotou T narůstá i riziko přítomnosti okultních metastáz v krčních lymfatických uzlinách při jinak cN0 nálezu. U nádorů T1/T2 se toto riziko odhaduje až na 20 – 30 % [265]. U lateralizovaných tumorů je metastazování především do ipsilaterálních lymfatických uzlin a to v případě tvářové sliznice téměř ve 100 % do prostoru IB, u gingivy v 70 % do prostorů IA a IB, u retromolárních karcinomů v 62 – 80 % do prostorů IB a IIA, v případě maxily v 60 – 70 % rovněž do prostorů IB a IIA [266–272]. U jazyka pak v 75 % nádor metastazuje do prostorů I a IIA, v 8 % do prostoru IIB a v 6-8 % do prostoru IV, kontralaterální metastázy mohou být přítomny až ve 12 % případů [267,268,270–278]. U nádorů spodiny dutiny ústní jsou metastázy v 75 % v prostoru I a IIA, až v 10 % mohou být kontralaterálně. V případě měkkého patra pak jsou metastázy nejčastěji v prostorech IA, IB a IIA a to v 55%, až ve 25 % bývají však i kontralaterálně, zejména blíží-li se nádor ke střední čáře [268,270–273,279]. Prostor IV u cN0 je zasažen v 15 % případů za situace, že jsou zasaženy i vyšší prostory, o solitární „skip“ metastázy v tomto prostoru se jedná maximálně ve 2 – 5 % [271,274,277,278,280]. Prostor V je pak v tomto případě zasažen v méně jak 1 % případů [271]. Po několik dekád se vedou odborné diskuze stran managementu cN0 u nižších stádií T. Co se přežívání bez nemoci (DFS) a celkového přežití

(OS) týče, pacienti výrazně profitovali z provedení elektivní krční disekce (END), jak dokazuje ve své studii D’Cruz et al.. Zde při provedené END bylo 69,5 % DFS a 80 % OS, na rozdíl od pacientů, kteří byli pouze sledováni a či se prováděla krční disekce až při metastatických projevech. V tomto případě bylo patrné zhoršení léčebných výsledků na 45,9 % DFS a 67,5 % OS v pětiletém časovém horizontu [281]. Tento negativní jev je vysvětlován skutečností, že od předpokládaného záchytu N1 se často pacienti k léčbě dostali až při N2 či dokonce N3 [282,283]. Doporučeným rozsahem END by měla být selektivní disekce prostorů I – IV se zastižením minimálně 18 lymfatických uzlin [284–286]. Použití různých zobrazovacích metod k lepšímu rozlišení skutečného N0 stavu nepřineslo požadované výsledky [287,288]. Ve snaze nalézt rozumný kompromis mezi zbytečnou operační zátěží při pN- a zhoršením prognózy při včas neléčeném pN+ byl převzat koncept biopsie sentinelové lymfatické uzliny (SNB), který v jiných oborech, například u operativy karcinomu prsu, funguje celkem spolehlivě. Okolí nádoru je při technice SNB infiltrováno radionuklidem (Technecium 99 m) či barvivem, což by mělo být primárně vychytáváno ve spádové lymfatické uzlině, kde je největší pravděpodobnost záchytu metastázy. Takto označená uzlina je pak odstraněna a histologicky vyšetřena [289–291]. Z konceptu SNB nejvíce profitovali pacienti, kteří byli skutečně N-, u pacientů N+ vedlo toto vyšetření spíše k prodloužení intervalu adjuvantní terapie a dalším negativům [292]. Všeobecně je uznávaný koncept, že tloušťka nádoru, nebo lépe hloubka invaze (DOI), má zásadní vliv na metastazování. Riziko metastazování je statisticky významné u tumorů spodiny dutiny ústní, jejichž DOI přesahuje 1,5 mm a u ostatních lokalit úst pak 4 mm [292]. Na základě tohoto poznatku pak byly vytvořeny guidelines pro zařazení END do léčebného konceptu při cN0. Například koncept National Comprehensive Cancer Network (NCCN) důrazně doporučuje provedení END při DOI 4 mm a více, pouze u tumorů s DOI méně jak 2 mm je provedení END na zvážení [293]. V úvahu by měla být brána další kritéria nádoru jako je lokalita, styl růstu, radiologické a histopatologické rysy, například u nádorů spodiny dutiny ústní při DOI více jak 2 mm by měla být zvážena END i kontralaterálně [265]. Dalším negativním prognostickým faktorem v souvislosti s metastazováním je již zmiňovaná ENE, kterou můžeme rozdělit na mikroskopickou (miENE, nádorové buňky nezasahují dále jak 2 mm přes pouzdro uzliny) a makroskopickou (maENE, nádorové buňky zasahují dále jak 2 mm přes pouzdro uzliny) [294]. ENE obecně má vliv na výsledný stage onemocnění, jak je patrné z nové TNM klasifikace a tím i na vedení léčby a prognózu [294]. Není však zcela jednoznačný názor, zda je v tomto ohledu významný rozdíl mezi miENE a maENE [295,296].

2.6.1.3. Přítomnost vzdálených metastáz – M

Přítomnost metastáz ve vzdálených orgánových soustavách je výrazný negativní prognostický faktor dramaticky zvyšující stage onemocnění [297]. Nejčastěji bývají takto zasaženy plíce, játra a kosti, vzdálené metastázy mohou být přítomny ve 4 – 26 % případech onemocnění spinocelulárním karcinomem hlavy a krku, častěji u lokálně pokročilých nádorů a v mladším věku [298–300].

2.6.1.4. Histopatologické charakteristiky nádoru

Při mikroskopickém vyšetření nádorové tkáně jsou patrné nejružnější charakteristiky nádorových buněk a je rovněž patrná interakce s okolními strukturami a tkáněmi. Na základě tohoto vyšetření se dá odhalit celá řada histopatologických rysů nádoru, u některých je impakt na prognózu onemocnění známý, u některých je předmětem výzkumu. Tato oblast je v současnosti předmětem intenzivního výzkumu a stále jsou objevovány nové celulární nebo subcelulární nádorové charakteristiky, které mohou ovlivňovat prognózu onemocnění nebo se dokonce stát terčem cílené terapie.

2.6.1.4.1. Perineurální invaze

Mezi běžně vyšetřované prognostické markery patří perineurální invaze (PNI). Jedná se o agresivní rys nádoru, který souvisí se zvýšením morbidity a mortality onemocnění a snižuje pětileté přežití [301,302]. Záchyt PNI pozitivita je u pacientů s OSCC udáván průměrně ve 40 % případů, přičemž různé studie udávají incidenci od 2 do 82 % [303]. Definice tohoto stavu není mezi patologií standardizována. Prvně byla popsána v roce 1835 Curveiheirem, V roce 1985 popsal Batsakis PNI jako invazi nádorových buněk do, okolo a skrz nerv. Dunn et al. definoval PNI jako přítomnost maligních buněk v perineurálním prostoru s kompletním či téměř kompletním obemknutím nervu [304]. Nejvíce používaná definice byla publikována Liebigem et al. a dělí PNI na dvě kategorie: Liebig typ A znamená přítomnost nádorových buněk mezi nervovými obaly a infiltrace do epineuria, perineuria a endoneuria. Liebig typ B je definován jako obkroužení nervu nádorem minimálně z 33 %. Ani tato klasifikace však ideálně nezpracovává prognostické rysy PNI a vývoj vhodnější klasifikace nadále pokračuje [305]. Dříve akceptovaná teorie o pasivním mechanickém šíření v anatomicky příznivém prostoru epineuria a perineuria je nahrazena konceptem aktivní penetrace nádorových buněk perineuriem a interakce se Schwannovými buňkami a axony [306]. Zubair et al. prokázal statisticky významnou souvislost PNI s přítomností krčních lymfatických metastáz. Může se tedy jednat o indikátor ospravedlňující provedení elektivní blokované krční disekce či adjuvantní radioterapie [307]. PNI je možné predikovat rovněž pomocí biomarkerů, jako jsou například zvýšená exprese nervového růstového faktoru a tyrosin kinázy [308].

2.6.1.4.2. Hloubka invaze (DOI)

Jedná se o významný prognostický faktor, který jak již bylo řečeno výše, dle 8. vydání TNM ovlivňuje přímo stage onemocnění a rovněž je významným rizikovým faktorem při metastazování nádoru. Hloubka invaze je rovněž považována za nezávislý prognostický faktor lokální a regionální rekurence onemocnění [309]. Některé studie dávají do souvislosti hloubku invaze a adekvátní resekcí okraj, Sultania et al. pracuje s konceptem poměru DOI a velikosti resekcí okraje, doporučuje hodnotu DOI vynásobit koeficientem 0,5 a výsledná hodnota pak určuje minimální rozsah bezpečnostního okraje [310]. V práci Munschela et al. je patrná statisticky významná souvislost s mírou celkového přežití ($p = 0,006$), obdobím bez relapsu ($p = 0,003$) a přítomností lokoregionálních lymfatických metastáz ($p = 0,032$) [311]. Z výše popsaného vyplývá i vliv na adjuvantní léčbu. Pacienti, kteří dle 7. vydání klasifikace TNM byli rozsahem nádoru v nižších stádiích onemocnění, nicméně s významnou hodnotou DOI, měli významně horší hodnoty celkového přežití než pacienti, kteří byli dle současně platné klasifikace upstagovali a adjuvantně ozářeni [312]. Hloubka invaze se předoperačně určuje někdy poněkud obtížně. Ultrasonografie se zdá být vhodnou vyšetřovací metodou na základě metaanalýzy sledující porovnání grafických a histopatologických dat [313]. Při grafickém vyšetření se někdy spíše hovoří o tloušťce tumoru a tato hodnota je brána jako klinický prediktor histopatologické hodnoty DOI [314].

2.6.1.4.3. Kostní invaze

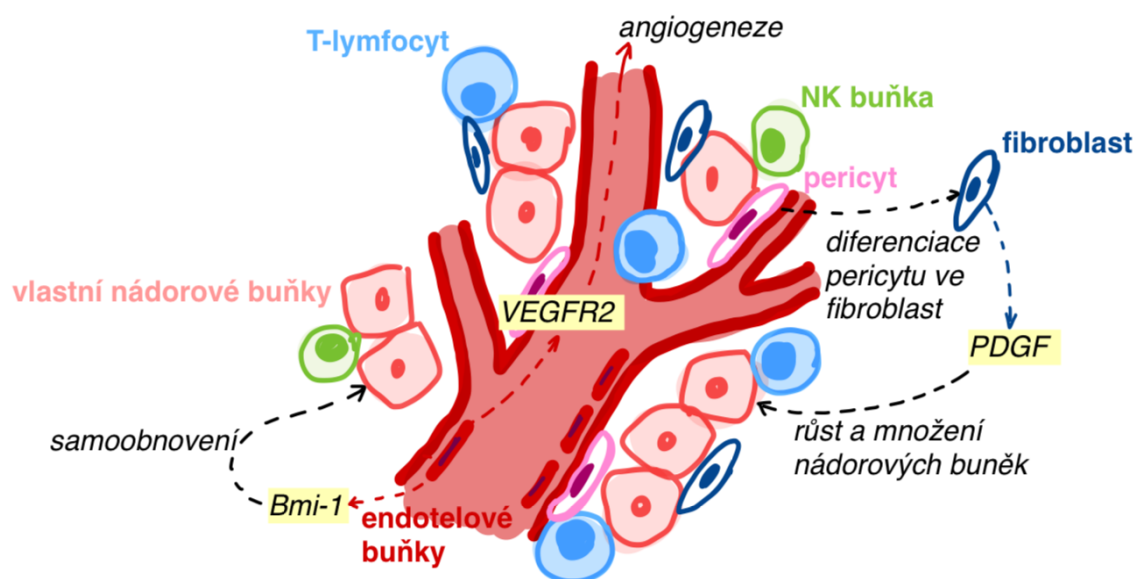
Pouhá povrchová eroze kortikalis nesplňuje definici kostní invaze. Jedná se o stav, kdy je nádorovými buňkami zasažena kostní dřevina a tumor se tedy šíří do hlubších struktur kostí. Tento děj je podložen komplexním molekulárním mechanismem a jsou rovněž popisovány tři podoby kostní invaze, a to erozivní, infiltrativní a smíšená se statisticky významným vlivem na klinické chování nádoru. Bylo zjištěno, že u nádorů s infiltrativním typem invaze dochází k vyšší expresi tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF- α) a interleukinů 6 a 11 a parathormon-asociovaného proteinu (PTHrP) na rozdíl od tumorů s povrchovou erozivní

nebo žádnou formou kostní invaze [315]. Tyto cytokiny způsobují supresi osteoprotegerinu nebo expresi RANKL u stromálních a OSCC buněk, což má dopad na indukci osteoklastogeneze [316]. V průběhu výzkumu stromálních buněk se zjistila zajímavá skutečnost, a to že stromální buňky derivované z gingivy podporují kostní invazi OSCC aktivací osteoklastů na kostním povrchu prostřednictvím exprese matrix metaloproteinázy (MMP-9 a MT1-MMP), transkripčního faktoru Snail, PTHrP a RANKL, zatímco stromální buňky původem z periodontálních ligament kostní invazi inhibují [317]. Jedná se o prognostický faktor zohledněný v TNM klasifikaci, kdy mikroskopický nález kostní invaze má zásadní vliv na stupeň T, posouvá nádorové onemocnění do lokálně pokročilého stadia T4a. V některých studiích se neprokázal vliv přítomnosti kostní invaze na tendenci k lokoregionálnímu metastazování, ani souvislost s typem invaze nádoru a celkové přežití [318]. Přítomnost kostní invaze s ohledem na celkový rozsah nádoru se významně liší s ohledem na primární origo. U nádorů vycházejících z gingivy, tvářové sliznice či spodiny dutiny ústní v blízkosti alveolu se kostní invaze vyskytuje dříve i u tumorů rozsahově nevelkých, na rozdíl od kosti vzdálenějších lokalit, například u nádorů jazyka. Z toho plyne i logický závěr, že přítomnost lokoregionálních metastáz nelze vztáhnout pouze ke skutečnosti kostní invaze [319].

2.6.1.4.4. Vaskulární invaze

Solidní tumor lze popsat jako tkáň skládající se z vlastních nádorových buněk, které jsou doplněny stromatem. Zároveň je tento komplex obklopen extracelulární matrix (ECM). Nádorové stroma je tvořeno buňkami imunitního systému (hlavně NK buňkami a T-lymfocyty), fibroblasty a v neposlední řadě také cévami. Angiogeneze je proces nezbytný pro výživu, růst a metastazování nádoru [320]. V malých prostorách v okolí cév (tzv. niches) totiž přebývají nádorové kmenové buňky, pro které tato lokalita představuje ideální prostředí. Dochází zde ke komunikaci mezi ECM a nádorovými buňkami, což je proces nezbytný k přežití nádoru jako celku [321,322]. Funkce endotelu jako endokrinního orgánu se uplatňuje i v nádorovém mikroprostředí: sekrece faktorů (jako např. IL-6 či EGF) přímo podporuje migraci nádorových buněk, brání jim v anoikis (typ apoptózy nastávající, když se od ECM oddělí buňka, jejíž přežití na tomto připojení závisí) a aktivuje signální cesty vedoucí k růstu a buněčnému dělení (např. ERK) [323,324]. Konkrétně tumory hlavy a krku zvyšují pomocí uvolňovaných endoteliálních faktorů expresi Bmi-1, který podporuje samoobnovení nádorových buněk. Komunikace mezi nádorovými kmenovými buňkami a endotelem, zjednodušeně vyobrazena na obrázku 3, může být významná z hlediska léčby. Klinické studie, zabývající se jejím přerušením, prokázaly zlepšení léčebných výsledků u rekurentních nádorů hlavy a krku. Další preklinické studie dokazují, že lze úspěšně použít monoklonální protilátky proti VEGFR2 (vascular endothelial growth factor 2) a přímo tak zamezit růstu nových cév [325]. Na druhou stranu, v jiných preklinických studiích na modelech rakoviny prsu, kde byla použita antiangiogenní terapie vychází najevo, že nádorové buňky postižené hypoxií v některých případech mohou rychleji proliferovat a nádory pak vykazují vyšší agresivitu [326,327]. Možným řešením se zdá být kombinace antiangiogenních faktorů a cytostatických farmak (např. Hedgehog inhibitor IPI-926 + cetuximab), nicméně tento koncept je zatím předmětem dalšího výzkumu [328]. S angiogenezí se také pojí pojem pericyty: jedná se o buňky s četnými výběžky obklopující drobné cévy, které ovlivňují jejich průsvit a permeabilitu, podporují růst endotelu a podílejí se na leukotaxi [329]. Fyziologicky se vyskytují v hematoencefalické bariéře a v ledvinách [330,331]. V neoplastických tkáních se chovají jako multipotentní mezenchymální buňky a mohou se z nich diferencovat nové adipocyty, chondrocyty nebo fibroblasty. Mezenchymální buňky jsou pro nádory velice výhodné: např. fibroblasty produkují mimo

jiné PDGF (platelet derived growth factor), který významně potencuje růst a množení nádorových buněk a je tak přímo spjat s invazivitou tumoru [332,333]. Pericyty jsou dále schopny prodloužit své cytoplazmatické výběžky do nádorového stromatu, což je vodítkem pro endoteliální buňky, které podél těchto výběžků migrují a podílí se na další novotvorbě cév [332,334].



Obrázek 3 - Schéma zachycující nádorové mikroprostředí v souvislosti s kapilárním řečištěm a vaskulární invazí

2.6.1.4.5. Nádorový grade

Stupeň diferenciacce je obvykle vnímán jako nádorový grade. Existuje několik systémů, jakým způsobem lze histologický grade vyhodnocovat. Již v roce 1920 byl Broderem vyvinut kvantitativní systém gradingu, který rozlišuje dobře, středně, špatně diferencovaný a nediferencovaný typ nádoru. Prognóza onemocnění ale často nekorelovala se stupněm gradu u tohoto systému a tak byl vyvinut v roce 1973 Jakobssonem et al. multifaktoriální gradingový systém, který dále Anneroth a Hansen upravili pro použití u OSCC [335]. Ne všude na světě jsou dostupné pokročilé imunohistochemické a jiné metody odhalující například mitotický index, obsah DNA, Ki-67 a jiné. Anneroth tedy stanovil 6 kritérií týkajících se vlastností nádorových buněk a jejich vztahu k tkáním hostitele. Jde konkrétně o stupeň keratinizace, jaderný polymorfismus, počet mitóz, typ invaze, míru invaze a lymfoplasmatickou infiltraci. Jednotlivým skupinám jsou přiděleny body od 1 do 4 a jejich součet pak udává výsledný grade [336]. Oba popisované systémy gradingu mají statistický korelát s přítomností krčních lymfatických metastáz, systém Anneroth je však stran predikce přítomnosti krčních lymfatických metastáz a prognózy spolehlivější [337]. V práci olomouckých autorů Michálek et al. je popisovaný silný statistický korelát mezi stupněm gradingu a vyšším stadiem nádorového onemocnění ($p = 0,001$) [262].

2.6.1.4.6. Pozitivní resekční okraj

Základem úspěšné chirurgické léčby u pacientů s OSCC je pokud možno kompletní odstranění nádorových buněk z těla pacienta. Pozitivní resekční okraj je významný negativní prognostický faktor, který ovlivňuje především lokální rekurenci a má vliv na celkový úspěch terapie a tím potažmo i na prognózu [338–341]. V literatuře se objevují ne zcela konzistentní výsledky výzkumu na toto téma. Liší se jak míra lokální rekurence, tak i

definice adekvátního chirurgického okraje [342–344]. V některých studiích dokonce nebyla nalezena statisticky významná souvislost lokální rekurence s kvalitou resekcčního okraje [345]. V aktuální verzi TNM klasifikace, 8. vydání UICC, je však kvalita resekcčního okraje jednoznačně identifikována jako hlavní prognostický faktor. Na základě mikroskopického vyšetření se pak udávají nejčastěji 3 podoby resekcčního okraje, a to negativní, blízký a pozitivní [346–348]. Rozměry bezpečnostního lemu zdravé tkáně od invazivní linie tumoru se však mohou lišit [349,350]. Nejpoužívanější hodnotící systémy pracují s rozměrem 5 mm, jakožto hranicí čistého resekcčního okraje. Příkladem je systém dle International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR), kde patologicky čistý resekcční okraj (pFM) je > 5 mm, blízký okraj (pCM) je definován rozsahem 1-5 mm a pozitivní okraj (pPM) znamená vzdálenost méně jak 1 mm od invazivního nádoru nebo karcinoma in situ (CIS) [349]. Podobnou definici resekcčních okrajů má pak National Comprehensive Cancer Network (NCCN), kde čistý okraj znamená vzdálenost ≥ 5 mm, blízký okraj je > 0 a < 5 , pozitivní okraj znamená přítomnost invazivní nádorové složky nebo CIS v resekcčním okraji [351].

2.6.1.4.7. Nejhorší vzor invaze (Worst pattern of invasion – WPOI)

WPOI udává nejhorší mikroskopicky nalezený typ invaze nevhledě na jeho rozsah. Jedná se o 5stupňovou klasifikaci vytvořenou na základě již existující klasifikace POI (pattern of invasion) profesorkou Brandwein-Genslerovou, publikovanou v roce 2005 [352]. Jednotlivé stupně klasifikace znamenají: WPOI 1 - široký expanzivní růst, WPOI 2 - prstovitý expanzivní růst nebo samostatné velké nádorové ostrůvky hvězdicového vzhledu, WPOI 3 - invazivní nádorové ostrovy obsahující více než 15 buněk, WPOI 4 - invazivní nádorové ostrovy obsahující méně než 15 buněk, WPOI 5 - satelity tumoru alespoň 1 mm od spojení tumor/hostitel [353]. Stupně WPOI 4 ($p = 0,004$) a 5 ($p = 0,001$) byly výrazně spojeny se snížením celkového přežití [352,354]. Řada dalších studií dává do souvislosti WPOI s lokoregionální rekurencí ($p = 0,016$) [354,355], rizikem regionálních lymfatických metastáz ($p = 0,01$) [356], stádiem T ($p = 0,001$), N ($p = 0,002$), DOI ($p = 0,008$), PNI ($p = 0,001$) a gradem diferenciacie nádoru ($p = 0,001$) [357].

2.6.1.4.8. Příklady některých molekulárních prognostických faktorů

Receptor PD-1 (programmed cell death 1) přítomný na povrchu buňky a jeho ligand PD-L1 patří mezi imunitní kontrolní body hrající důležitou roli při zamezování imunitnímu systému v likvidaci nádorových buněk. Tento receptor je cílem imunomodulační léčby prostřednictvím monoklonální protilátky pembrolizumab či nivolumab, který se váže na receptor, brání interakci s PD-L1 a zlepšuje tak imunitní odpověď organismu prostřednictvím T-buněk [358]. Jeho exprese je však zkoumána i jako prognostický faktor a je spojena s rizikem krčních lymfatických metastáz ($p = 0,02$) a zhoršením celkového přežití ($p = 0,0016$)

Expresí receptoru pro aktivovanou tkáňovou proteinkinázu C1 (RACK1) v korelaci s poměrem M2/M1 makrofágů je další nezávislý prognostický faktor ovlivňující míru celkového přežití ($p < 0,05$) [359].

Nadměrná exprese poly ADP-riboza polymerázy 10 (PARP10) je významně propojena s kratším celkovým přežitím u pacientů trpících OSCC ($p = 0,043$) a je přítomna zejména u nádorů vyššího gradu ($p < 0,001$) a s přítomností lymfatických metastáz ($p < 0,05$) [360].

Zvýšená exprese heat shock proteinu 60 (HSP60) a survivinu predikuje špatnou prognózu onemocnění OSCC ($p = 0.018$), má souvislost se stadiem onemocnění a přítomností krčních lymfatických metastáz ($p = 0.004$, $p = 0.006$) [361].

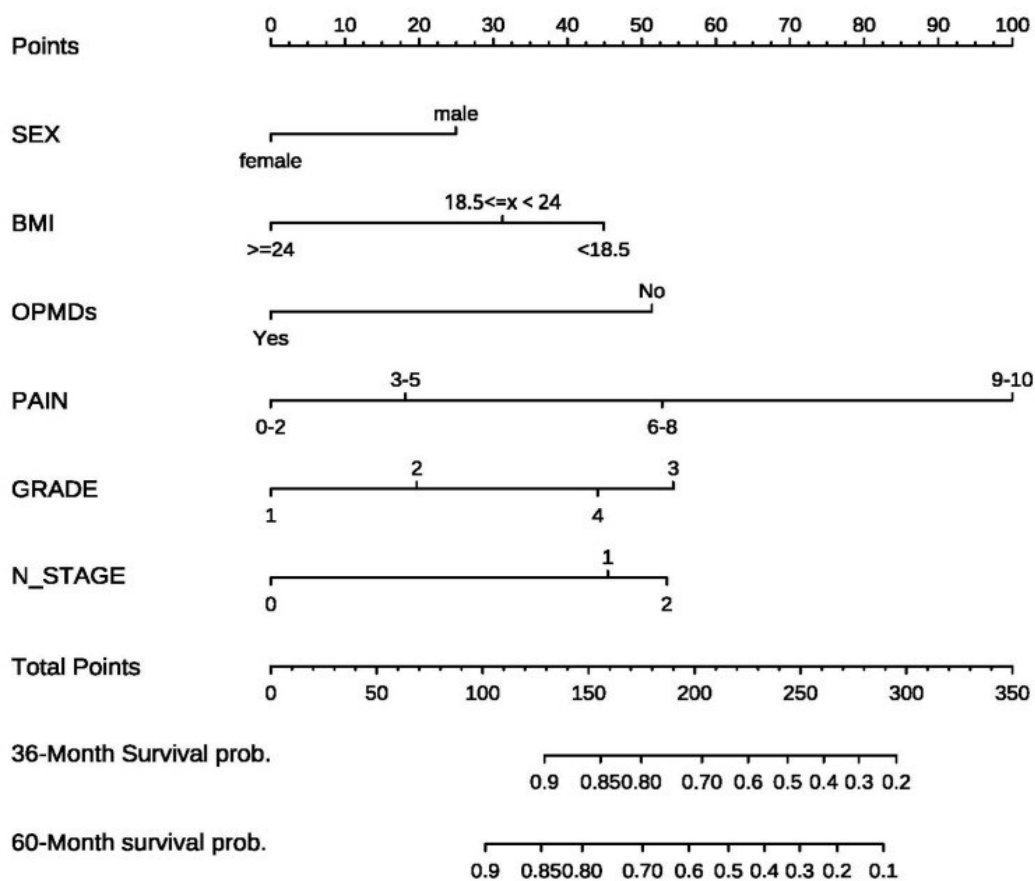
Zvýšená exprese transkripčních faktorů E2F2 u OSCC je spojena s poklesem celkového přežití, onemocnění prostého přežití a intervalu bez progresu onemocnění ($p = 0.001$, $p = 0.002$, $p = 0.02$) [362].

Nikotinamid N-metyltransferáza je enzym katalyzující metylaci nikotinamidu na 1-metylnikotinamid a má vliv na metabolickou aktivitu normálních lidských, ale i nádorových buněk. Jeho zvýšená exprese je asociovaná s vyšším rizikem vzniku metastáz ($p < 0.01$), pooperační rekurencí ($p < 0.05$) a snížením celkového přežití ($p < 0.0009$) [363].

Cirkulární RNA (circRNA) je stabilnější než lineární forma a je asociovaná s nádorovými buňkami. Může mít nejrůznější funkce, jako třeba genovou regulaci či kódování tvorby proteinů. Je zřejmé, že její role na fungování buněk je daleko komplexnější a je tedy předmětem výzkumu. Nadměrná exprese onkogenické circRNA u OSCC vedla ke zhoršení celkového přežití (hazard ratio 2,38), zatímco zvýšená exprese tumor supresorové circRNA měla spíše opačný efekt (hazard ratio 0,43). Zvýšená exprese onkogenické circRNA má souvislost s pokročilým stadiem onemocnění, vyšším gradem, přítomností lokoregionálních a vzdálených metastáz, u tumor supresorové circRNA je tomu naopak [364].

2.6.2. Prognostické faktory závislé na pacientovi

Stav organismu pacienta v době onemocnění OSCC je silně individuální a je těžké mezi sebou jednotlivé pacienty porovnávat. Statisticky je zřejmé, že vyšší věk pacientů má negativní prognostický vliv na celkové přežití ($p < 0,001$), což je ale vzhledem k průměrné délce života a obecnému zhoršování stavu orgánů a organismu jako celku pochopitelné. Lépe tento aspekt vystihuje specifické přežití ($p = 0,004$), někteří autoři naopak poukazují na vyšší agresivitu nádorů u mladších pacientů, u kterých je však incidence výrazně nižší a statistické zpracování je obtížné ($p = 0,044$) [365,366]. Ve skupině mladších pacientů je rovněž udáván větší výskyt rekurence onemocnění [367]. Pohlaví pacientů pravděpodobně na toto vliv nemá ($p = 0,192$) [261], podobně jako etnická příslušnost ($p = 0,789$) [365]. V některých případech má statisticky významný vliv i úroveň vzdělání pacienta, což má pravděpodobně souvislost se sociálním statutem ($p = 0,032$) [368]. Stav nutrice organismu v době onemocnění, vyjádřený například v podobě BMI, je další prognostický faktor mající vliv na celkové přežití. Rizikové se zdá být nízké BMI ($p = 0,022$) [369], ale naopak i vysoké, značící obezitu [370]. Na základě prognostických parametrů závislých na pacientovi je možné sestavit i různá skórovací prognostická schémata. Například Glasgow prognostické skóre (GPS) se určuje dle laboratorních zánětlivých parametrů plasmy, konkrétně CRP a albuminu, modifikované Glasgow prognostické skóre (mGPS) navíc zohledňuje věk, tlak arteriálního kyslíku, kalcium v séru, glykémii, LDH a ureu v séru a množství leukocytů v krevním obrazu. Udávaný c-index pro lokální rekurenci je zde více jak 0,70 [308]. V recentně publikované práci v časopisu *Diagnostics* byly identifikovány i další prognostické faktory s významností $p < 0.05$, jako například bolest a autoři sestavili prognostický nomogram, který je znázorněn na obrázku číslo 4 [363].



Obrázek 4 - Nomogram k predikci 3- a 5letého celkového přežití u pacientů po chirurgické terapii OSCC (Zdroj: Zhang XY, Xie S, Wang DC, Shan XF, Cai ZG. Prognosis and Nomogram Prediction for Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma: A Cohort Study. *Diagnostics (Basel)*. 2023, 17;13(10):1768. doi: 10.3390/diagnostics13101768)

2.6.3. Prognostické faktory závislé na vnějších vlivech

Vnější vlivy působící na pacienta mají někdy významný vliv na vznik, diagnostiku a terapii maligního onemocnění. Řada vnějších vlivů byla již zmíněna v předchozích kapitolách a některé z nich patří i mezi rizikové faktory stran vzniku malignity. Příkladem takových vlivů může být například expozice tabákovému a jinému kouři či jiným kancerogenním chemikáliím, míra dosaženého vzdělání a sociální zázemí nemocného a podobně. Tyto skutečnosti již byly v této práci zmíněny, rád bych zde ale prezentoval doposud nediskutované a z pohledu UICC významné prognostické faktory vnějšího prostředí. Sem patří například dávka podané onkologické léčby v podobě radioterapie, chemoterapie či jejich kombinace. V současné době probíhají různé studie na deescalaci onkologické terapie, zejména u HPV pozitivních tumorů orofaryngu, ale jsou prováděny i studie na HPV negativních pacientech. Tyto studie mají za cíl optimalizovat dávku terapie ve snaze snížit toxické vedlejší účinky. Výsledky II. fáze klinických studií dosahují slibných výsledků, nicméně žádná doporučení pro klinickou praxi z nich zatím neplynou [371]. Podle Zumstega, který analyzoval 7144 pacientů s karcinomem hlavy a krku z let 2004 až 2014, z nichž 68.4 % bylo OSCC, je signifikantní prognostický rozdíl v použití pooperační

radioterapie (PORT) a chemoradioterapie (POCRT) u pacientů s vyšším stadiem N. Statisticky významný rozdíl mezi pacienty léčenými POCRT versus PORT nebyl zaznamenán u 0–2 pozitivních lymfatických uzlin, významný rozdíl ve smyslu benefitu z rozšířenější adjuvantní onkologickou terapií (POCRT) byl zaznamenán u pacientů s 3 – 5 pozitivními lymfatickými uzlinami (HR 0.84, 95% CI 0.70–1.00, $p = 0.05$) a dále s více jak šesti pozitivními uzlinami (HR 0.65, 95% CI 0.51–0.82, $p < 0.001$) [372]. Několik studií uvádí velmi nízkou míru recidivy v kontralaterální svodné krční lymfatické u lateralizovaného OSCC, čímž je zpochybňována nutnost bilaterálního ozařování krku pN0 ve snaze zabránit ireverzibilním nežádoucím účinkům. V jedné z těchto studií se uvádí, že pouze 14 ze 481 (2,9 %) cN0 OSCC mělo izolovanou recidivu v oblasti kontralaterální krční lymfatické a je navrhována úsporná elektivní kontralaterální léčba krku (disekce nebo ozařování) [373]. Jiná studie uvádí 0/21 a 0/9 kontralaterálních selhání krku u pacientů s OSCC pN0 a pN1 bez kontralaterálního ozáření krku. Toto kontrastuje se 7/21 (33 %) kontralaterálními regionálními recidivami u pacientů s onemocněním pN2a/b bez kontralaterálního ozáření [374]. Prodloužený interval mezi operací a adjuvantní onkologickou léčbou, a tím i prodloužení celkové doby léčby, jsou dalšími negativními prognostickými faktory [375]. Současná doporučení NCCN doporučují 2,0 Gy na frakci do celkové dávky 60–66 Gy v adjuvantní léčbě a preferovaný interval mezi operací a PORT je ≤ 6 týdnů, obecně platí, že čím dříve, tím lépe [376]. V režimu POCRT jsou rovněž zkoumány režimy s nižším a méně četným dávkováním cisplatiny, zatím však výsledky studií nejsou natolik přesvědčivé, aby byl nahrazen režim vysoké dávky cisplatiny (100 mg/m² jednou za 3 týdny) [377–379]. Dále probíhá celá řada studií hodnotících použití jiných systémově podávaných léčiv, kromě cisplatiny například nivolumab, cetuximab, sitravatinib, tremelimumab a jiné. Data ke zhodnocení změn prognózy při jejich používání zatím nejsou příliš robustní [380].

2.7. Léčba OSCC

Léčba OSCC může být v závislosti na jednotlivých faktorech velice různorodá a individuální. Při tvorbě léčebného plánu je nutné zhodnotit anatomické poměry daného karcinomu, jeho obecnou charakteristiku a staging. V neposlední řadě je nutné se zaměřit na věk pacienta, jeho celkový stav a vzít v potaz i to, co od léčby očekává.

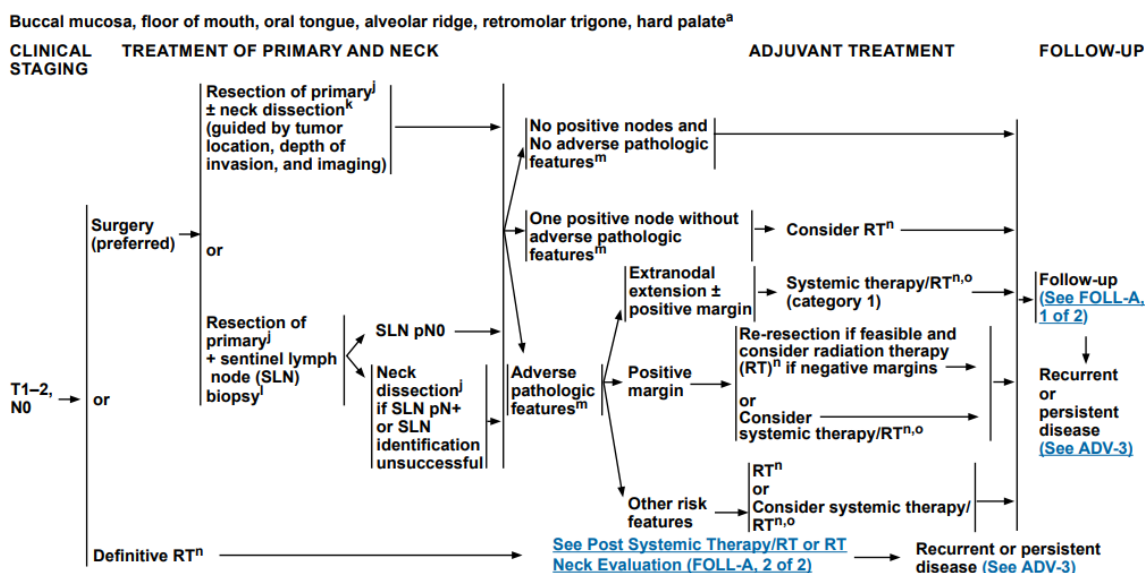
Terapie OSCC je tvořena třemi základními stavebními kameny: chirurgickou léčbou, radiací a systémovou terapií – ty se mohou vzájemně kombinovat nebo naopak lze použít pouze jednu z nich. Zvláštní postavení má zejména v posledních letech také imunoterapie [381].

Při výběru léčebné modalit je doporučeno řídit se mezinárodně uznávanými postupy NCCN. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) je nezisková organizace tvořená lékaři ze světových elitních onkologických center, která má za úkol vylepšit a zefektivnit léčbu rakovinných onemocnění (<https://www.nccn.org/home/about>).

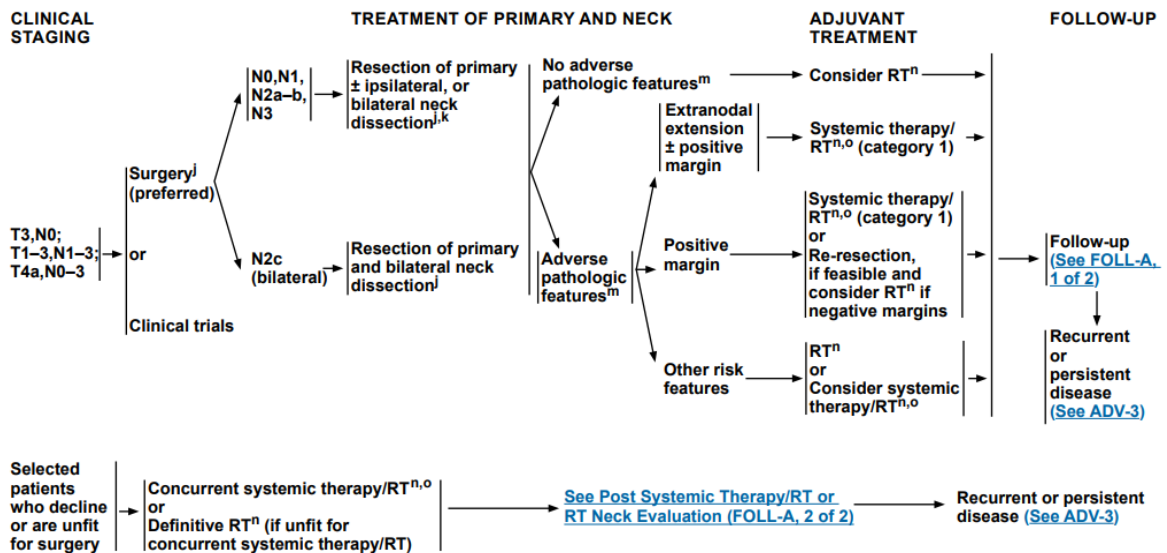
Rozhodovací algoritmus je v převzatém schématu uveden na obrázku číslo 5 a 6. Výběr příslušné terapie vždy začíná určením stadia onemocnění dle platné TNM klasifikace. První kategorii tvoří pacienti s T1 – 2, N0, druhou s T3, N0; T1 – 3, N1 – 3; T4a, N0 – 3. Do třetí skupiny spadají onemocnění klasifikována jako T4b, N0 – 3, dále případy, kdy jsou postiženy uzliny bez možnosti chirurgické léčby a dále pacienti neúnosní pro operaci. Čtvrtou skupinou jsou vzdáleně metastatická onemocnění v době jejich počáteční prezentace. Obecně lze říci, že pokud lze primární nádor a zasažené uzliny odstranit chirurgickou cestou, je tento postup vždy upřednostněn před radioterapií nebo systémovou terapií, protože je zde vyšší šance úplného uzdravení. Chirurgická terapie je pak dle potřeby

doplněna o adjuvantní onkologickou léčbu. Důležitou roli v rozhodovacím schématu hrají nepříznivé patologické faktory, kam patří extranodální extenze, pozitivní nebo blízké chirurgické okraje, primární pT4 a pT3, postižení uzlin pN2 a pN3, postižené uzliny v krčních prostorech IV a V a perineurální, perivaskulární a perilymfatická invaze.

V případě oropharyngu (kořen jazyka, měkké patro, tonsily) je nutné před zahájením jakékoliv léčby imunohistochemicky otestovat lézi na gen p16. Pozitivní výsledek p16 svědčí o HPV etiologii daného tumoru. Tyto nádory se vyznačují vysokou radiosenzitivitou, z tohoto důvodu je primární léčebnou metodou právě radioterapie, díky níž lze dosáhnout úplného vyléčení se zachováním funkce daného orgánu [293,381].



Obrázek 5 - Léčebný algoritmus u stadia T1-2, N0 (převzato z doporučení NCCN, verze 2/2023, Version 2.2023, 05/15/2023 © 2023 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN®))



Obrázek 6 - Léčebný algoritmus u stadia T3, N0; T1 - 3, N1 – 3; T4a, N0 – 3
 (převzato z doporučení NCCN, verze 2/2023, Version 2.2023, 05/15/2023 © 2023
 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN®)

2.7.1. Radioterapie

Radioterapii lze použít buď jako samotnou kurativní metodu, nebo jako doplnění chirurgické léčby. Cílem kurativní (definitivní) radioterapie je úplné vyléčení pacienta, paliativní radioterapie se snaží o zpomalení průběhu onemocnění a zlepšení kvality života. Pro zevní (externí) radioterapii je typické umístění zářiče mimo tělo, většinou se využívá ionizujícího efektu vysoce energetických fotonů (6 – 25 MV), které energii předávají hlubším strukturám s šetřením kůže. K léčbě je možno využívat i částice (protony, uhlíkové ionty), nebo v pozměněné formě využít k precizní stereotaktické ablativní radioterapii [382]. Podstata účinku brachyterapie je podobná, s tím rozdílem, že při brachyterapii se zářič vkládá do těsné blízkosti nebo přímo do nádorového ložiska [383].

Indikace daného typu radioterapie závisí na různých faktorech, především na stagingu. Pro T1-T2, N0 léze je preferována operace, pokud je pacient interně únosný a výkon neodmítá, nicméně vhodnou alternativou v tomto případě může být i například brachyterapie, zejména pokud se jedná o superficiální léze. Externí radioterapie je u tohoto stadia indikována adjuvantně (zejména při nepříznivých patologických faktorech, jako např. pozitivní chirurgický okraj nebo perineurální propagace). Pro pacienty ve stadiu III – IV bez vzdálených metastáz je doporučena primárně chirurgická léčba následována zevní radioterapií, neboť tento koncept má větší šanci na kompletní vyléčení. Pokud pacient odmítá operaci či je k ní neúnosný, je léčbou volby konkomitantní chemoradioterapie (cisplatina nebo cetuximab).

Standardní technikou zevní radioterapie je IMRT (intensity modulated radiotherapy), při které je ozařování prováděno paprsky z různých směrů o různých intenzitách s cílem chránit radiosenzitivní struktury redukcí dávky záření v těchto oblastech a naopak relativně zvýšit celkovou dávku záření v oblasti zájmu [384].

Důraz je kladen na dávky v jednotlivých ozařovaných prostorech (princip frakcionace) a vlastní vymezení cílového objemu. Plánovaný ozařovaný objem (PTV, planned target volume) obvykle zahrnuje CTV (clinical target volume, ložisko samotné). PTV je obvykle

větší o chirurgické okraje, zároveň ho ale lze redukovat kvůli vitálním strukturám [385]. CTV se dělí dle závažnosti, pod CTV1, tzv. high risk kategorie patří primární nádory, poresekční defekty a krční adenopatie. CTV2, (low risk) zahrnuje mikroskopické onkologické léze. CTV3 (intermediate risk) je tkáň obklopující nádor.

Brachyterapii je možné použít u různých indikací, lze kombinovat s teleradioterapií a chirurgickou léčbou či v případě reiradiace. Měla by být prováděna v k tomu určených centrech a indikační kritéria by měla být pečlivě zvážena. Může být buďto topická nebo implantační, prováděna v režimu low dose rate (LDR), pulsed dose rate (PDR), kdy je pacient ozařován v kratších intervalech po menších dávkách, nebo high dose rate (HDR), pro které jsou typické delší intervaly s intenzivnějšími dávkami [386]. Standardizovaná schémata teleradioterapie a brachyradioterapie shrnují tabulky 4, 5 a 6.

Radioterapie, zejména teleradioterapie, s sebou přináší celou řadu nepříjemností pramenících z poškození tkání v okolí tumoru. V období 90 dní od zahájení ozařování se projevuje akutní toxicita nejčastěji ve formě mukozitidy, dermatitidy a snížení funkce slinných žláz. Od 91 dne se pak začíná projevovat chronická toxicita s projevy v kůži a podkoží, hrtanu, hltanu, jícnu, očích a čelistech. Multiorganová kritéria jak chronická, tak akutní toxicity jsou zhodnocena ve skórovacím systému Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) a European Organization for Research and Treatment of Cancer (ERTOC) v pětistupňové škále, přičemž 0 znamená žádné změny a 5 značí smrt v souvislosti s ozářením [387]. Během radioterapie a recentně po ní je často nemožný perorální příjem potravy a je nutné zajistit výživu náhradní cestou – nasogastrickou sondou či v současnosti častěji pomocí perkutánní gastrostomie (PEG) [383].

Tabulka 4 - Definitivní radioterapie - teleradioterapie

Teleradioterapie			
High risk	Frakcionace	66 – 70 Gy (2.2 – 2.0 Gy/frakce)	5 dní v týdnu po dobu 6 - 7 týdnů
	Konkomitantní boost akcelerovaná	72 Gy (1.8 Gy/frakce + 1.5 Gy boost posledních 12 dnů)	5 dní v týdnu po dobu 6 týdnů
	Hyperfrakcionace	81.6 Gy (1.2 Gy 2x denně)	5 dní v týdnu po dobu 7 týdnů
Low / intermediate risk	Frakcionace	44 – 50 Gy (2 Gy/frakce) až 54 – 63 Gy (1.6 – 1.8 Gy/frakce)	5 dní v týdnu po dobu 6 - 7 týdnů

Tabulka 5 - Definitivní radioterapie - brachyterapiem

Brachyterapie			
nízce dávkový příkon (LDR/PDR)		20-35 Gy brachyterapie boost kombinovaný s teleradioterapií 50 Gy nebo 60 – 70 Gy brachyterapie	6 - 7 dní, 0.4 – 0.5 Gy/h
vysoce dávkový příkon (HDR)		21 Gy HDR boost + 40 - 50 Gy teleradioterapie (3 – 6 Gy/frakce)	2 frakce denně s nejméně 6h intervaly

Tabulka 6 - Postoperační teleradioterapie (měla by proběhnout do 6 týdnu po operaci)

High risk	60 – 66 Gy (2 Gy/frakce)	5 dní v týdnu po dobu 6 - 6.5 týdnů
Low/intermediate risk	44 – 50 Gy (2 Gy/frakce) až 54 – 63 Gy (1.6- 1.8/frakce)	5 dní v týdnu po dobu 4.5 - 7 týdnů

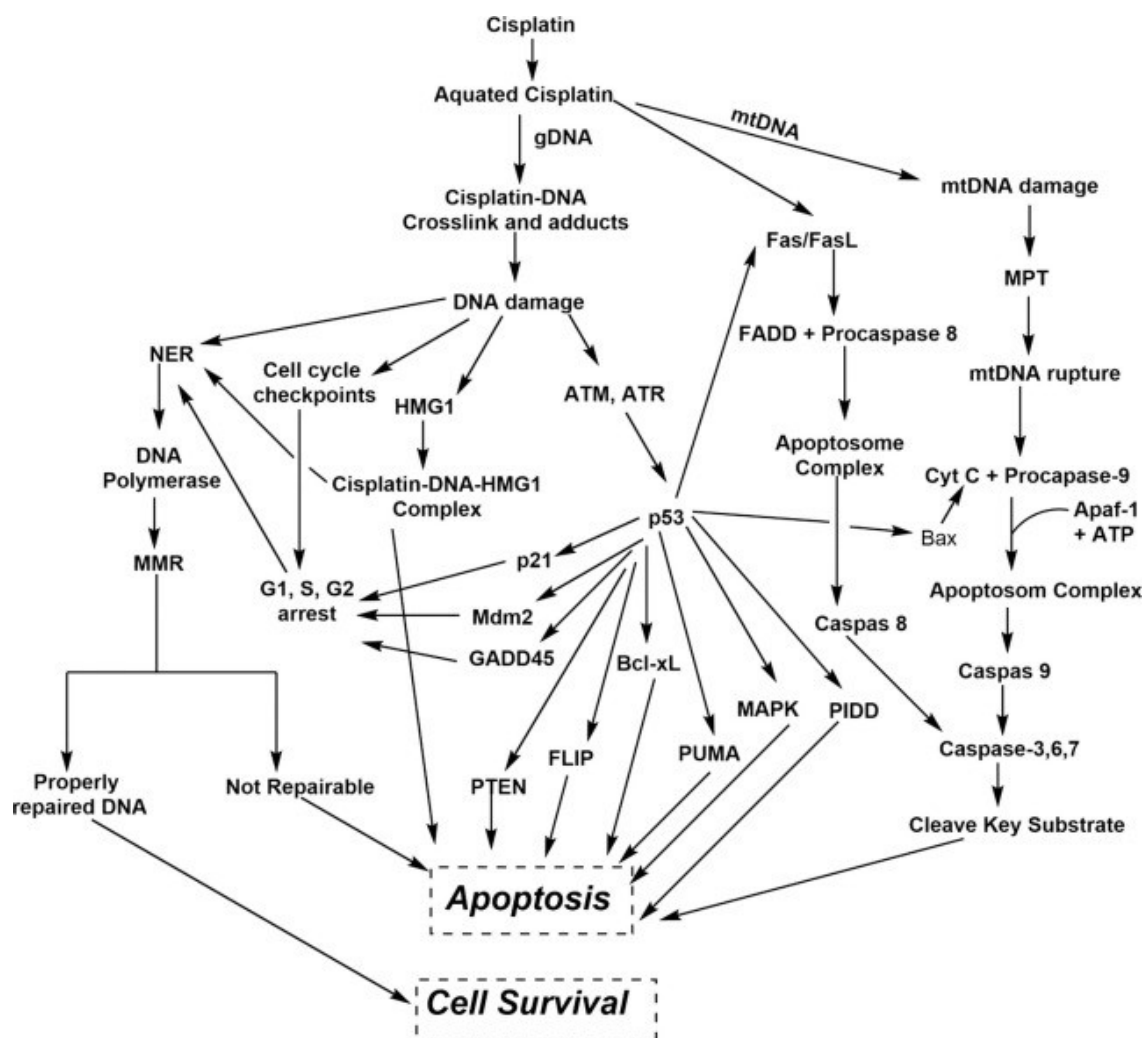
2.7.2. Systémová terapie

Systémová terapie se nejčastěji používá v případech lokálně pokročilých či diseminovaných tumorů, kde primární chirurgická terapie není možná, nebo znamená pro pacienta výraznou pooperační morbiditu. Administrace by měla být vždy maximálně individualizovaná a dle charakteristik pacienta či strategie terapie se podává buďto jako primární léčba, většinou v kombinaci s radioterapií (chemoradioterapie), nebo jako indukční (neoadjuvantní) či pooperační (adjuvantní), opět nejčastěji v kombinaci s radioterapií. K léčbě OSCC je používáno několik typů chemoterapeutik a jejich výběr se řídí naplánovanou léčebnou strategií a individuálními potřebami pacienta, výhodné jsou i synergické kombinace snižující toxicitu terapie.

2.7.2.1. Platinová cytostatika

2.7.2.1.1. Cisplatina

Konvenčně využívaným chemoterapeutikem je v současné době cisplatina s dávkováním 75 - 100 mg/m² každé tři až čtyři týdny. Dle stavu pacienta a terapeutického záměru může být dávka snížena až na 40 mg/m² [388]. Cisplatina se váže na jadernou a mitochondriální DNA a poškozuje ji, zvyšuje oxidativní stres a tím pádem zamezuje dalšímu dělení buněk nebo přímo způsobuje jejich apoptózu [389]. Účinky cisplatiny názorně demonstruje obrázek číslo 7. Mezi nejčastější a závažné nežádoucí účinky patří nefrotoxicita, ototoxicita, neurotoxicita a gastrointestinální toxicita [390–393]. Ke zmírnění těchto nežádoucích účinků se mohou současně podávat antioxidanty, antiemetika či masivní intravenózní hydratace [391,394]. Problematická je rovněž častá nádorová rezistence a relapsy po terapii [388].



Obrázek 7 - Účinek cisplatiny (Zdroj: Ghosh, S. Cisplatin: The First Metal Based Anticancer Drug. *Bioorg. Chem.* 2019, 88, 102925, doi:<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>)

2.7.2.1.2. Karboplatina

Princip funkce karboplatiny je podobný cisplatině, která rovněž poškozuje DNA, což vede k nesprávné funkci, nemožnosti dělení a apoptóze. Liší se však charakterem a mírou nežádoucích účinků. Nefrotoxicita, ototoxicita a neurotoxicita se vyskytují daleko méně a nauzea s emezí jsou většinou menšího rázu, s časovou latencí od podání a není nutná souběžná agresivní infuzní terapie. Může se však vyskytnout myelosuprese se závažnou trombocytopenií a leukopenií. Odlišná toxicita a podobný účinek může být u některých pacientů výhodnou kombinací [395].

2.7.2.2. Taxany

Jedná se skupinu cytostatik mající původ v alkaloidech tisu (*Taxus*). Principem účinku je zvýšená stabilizace mikrotubulů a narušení funkce dělicího vřeténka v době mitózy a tím znemožnění buněčného dělení.

2.7.2.2.1. Paclitaxel

Podává se buďto v monoterapii nebo lépe v kombinaci s jinými chemoterapeutiky, například karboplatinou v dávce 175 mg/m² každé 3 týdny, indikace je podobná jako u

ostatních chemoterapeutik. S výhodou se podává u nádorů rezistentních na platinové deriváty [396]. Podávání tohoto léčiva s sebou rovněž přináší celou řadu nežádoucích účinků. Mezi nejčastější patří anemie a neutropenie, dále pak průjem, mukozitidy, a iontové dysbalance [397].

2.7.2.2.2. Docetaxel

Toto chemoterapeutikum bylo vyvinuto v roce 1986, tedy 15 let po paclitaxelu. V porovnání se svým předchůdcem vykazuje větší afinitu k tubulinu a má větší vliv na aktivitu buněčného cyklu [398]. Rovněž má větší intracelulární retenci danou snazším vstřebáváním a menším efluxem u nádorových buněk, což vede k větší schopnosti apoptózy a antitumorózního efektu [399,400].

2.7.2.3. Antimetabolity

2.7.2.3.1. Fluorouracil

Jedná se o analog uracilu a principem jeho účinku je zamezení syntézy DNA cestou blokace tymidylátsyntetázy. Patří mezi základní chemoterapeutika v léčbě OSCC a opět v kombinaci s jiným vhodným cytostatikem (například docetaxel), se jeho účinnost ještě zvětšuje a snižuje se nádorová rezistence [401]. Systémové podání je rovněž spojeno s nežádoucími účinky toxického charakteru. Ve snaze snížit toxicitu při systémové administraci byly provedeny i studie hodnotící podání ve formě bukalních tablet [402]. Systémové podání je klasicky v režimu pooperačním (adjuvantní) nebo předoperačním (neoadjuvantní) a dává se na podle povrchu těla (200 – 600 mg/m² dle léčebného režimu) [403].

2.7.2.3.2. Metotrexát

Jde o další antimetabolit – analog kyseliny listové, která je potřebná k syntéze DNA. Inhibuje enzym dihydrofolátreduktázu a má protinádorové a imunosupresivní účinky. Jeho účinek se dá zvrátit podáním leukovorinu (metabolitu kyseliny listové) [404]. Jeho použití bylo zkoumáno i v metronomické léčbě (signifikantně nižší, než maximální tolerovaná dávka po delší dobu) v kombinaci s celecoxibem a bylo dosaženo lepších výsledků, než u skupiny pacientů léčených platinou a za mírnějších vedlejších účinků [405].

2.7.2.4. Monoklonální protilátky / imunoterapie

2.7.2.4.1. Imunoterapie

Rapidní rozvoj imunoterapie v posledních 20 letech přináší do oblasti léčby rakoviny nové možnosti a naděje [406]. Klíčovou součástí pokroku bylo detailní prostudování patologických procesů na molekulární úrovni. Buňky imunitního systému mají nezastupitelný podíl v obraně před nádorovým bujením. Nejdůležitější komponentou protinádorové imunity jsou CD8⁺ cytotoxické T-lymfocyty, které ale dokážou uplatnit své destruktivní účinky až po spolupráci s dalšími buňkami, např. NK buňkami (přirození zabíječi), dendritickými buňkami (DCs – druh antigen prezentujících buněk) nebo CD4⁺ helperovými T-lymfocyty. Jakmile jsou cytotoxické CD8⁺ buňky aktivovány, stávají se z nich efektorové CD8⁺ T-lymfocyty schopné zabít buď pomocí cytotoxických granul, nebo tím, že se naváží na specifický Fas ligand a přímo tak aktivují signální dráhu vedoucí k apoptóze. Z důvodu možné autodestruktivity podléhají cytotoxické T-lymfocyty dvoustupňovému způsobu aktivace - prvním aktivačním signálem je propojení TCR a komplexu MHC I-antigen, druhým (kostimulačním) signálem je kontakt CD28⁺ na povrchu T-lymfocytu a B7 molekuly na povrchu APC, jak znázorňuje kresba na obrázku číslo 8. Aktivace a deaktivace T-lymfocytů jsou regulovány skrz checkpointy (bez checkpointů by docházelo k autoimunitním reakcím). Mezi nejdůležitější checkpointy patří CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen 4) a PD-1 (programmed cell death protein-1). CTLA-4 je exprimován na povrchu T-lymfocytů. Pokud se naváže na CD28⁺ na povrchu dalšího lymfocytu, dochází k produkci TGF beta (transforming growth factor beta) a působí tak imunosupresivně. CTLA-4 se také může vázat na B7 protein na povrchu APC a způsobit tak dysfunkci T-lymfocytu a zeslabit tak imunitní odpověď. Nádorové buňky jsou schopny stimulovat expresi CTLA-4 na T-lymfocytech, snížit jejich aktivitu a díky tomu dále přežít. PD-1 je receptor na povrchu aktivovaných T-buněk, je považován za marker vyčerpání. Váže se na něj PD-L1 (programmed death ligand 1), který způsobuje apoptózu a mimo jiné je fyziologicky exprimován na epiteliálních APCs. PD-L1 a PD-1 mohou být ve zvýšeném množství exprimovány nádorovou tkání, což vede k imunosupresi – T-lymfocyty podléhají programované buněčné smrti a nádor nekontrolovatelně roste. Přirozená obrana nádorů tedy spočívá v degradaci MHC I molekul (takže cytotoxický CD8⁺ T-lymfocyt nemůže reagovat) a dále v sekreci imunosupresivních a proapoptotických faktorů [407]. Imunoterapie funguje na základě přerušení vedení signálu nebo ovlivnění checkpointů pomocí monoklonálních protilátek.

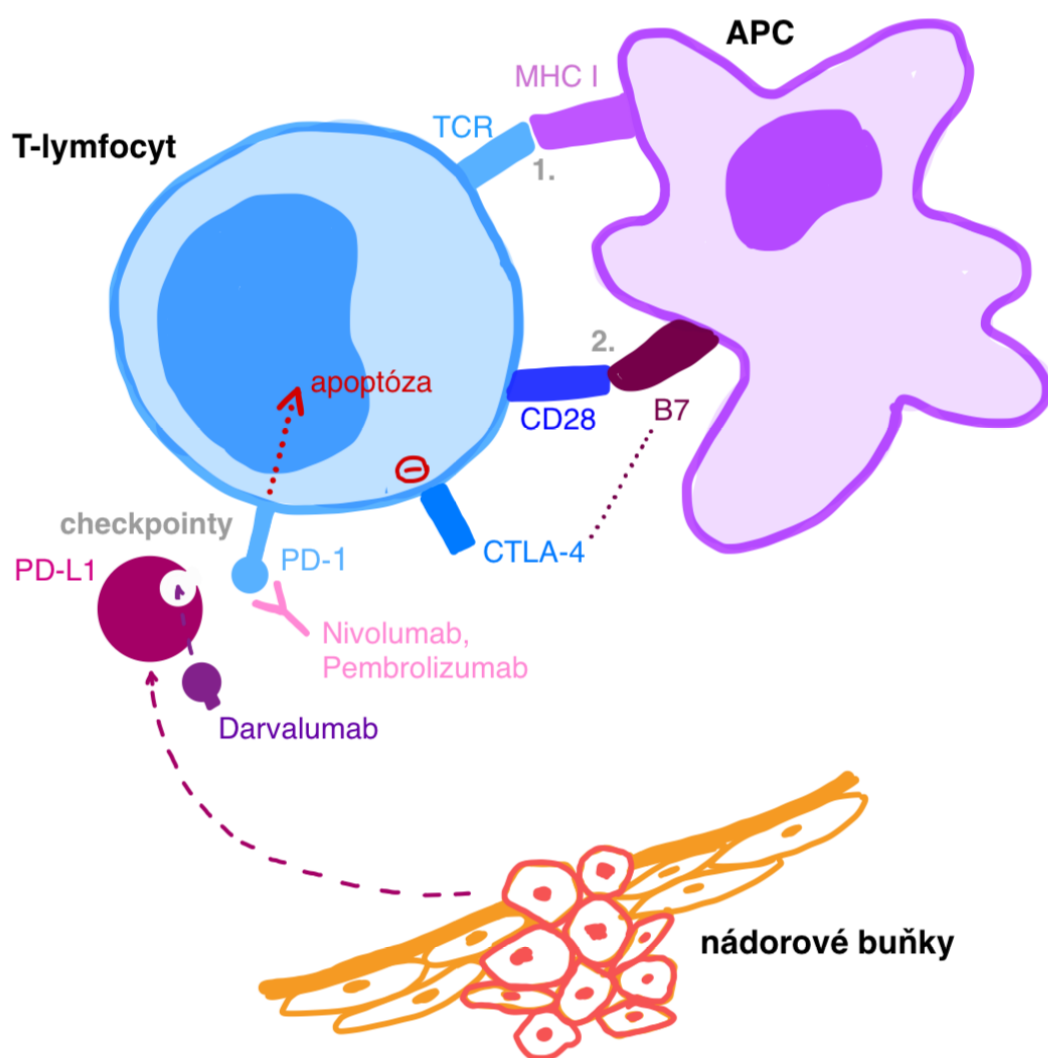
2.7.2.4.2. Cetuximab

Jedná se o protilátku proti EGFR (epidermal growth factor), prostřednictvím kterého je řízen na základě vnějších vlivů růst a vývoj buňky. Vazba protilátek na povrch buňky nejen že inhibuje buněčný růst, invazi, angiogenezi a metastazování, ale rovněž aktivuje imunitní reakci v podobě buněčné cytotoxicity [408]. Podávání tohoto léčiva je rovněž spojeno s nežádoucími účinky, které byly popisovány nejčastěji v podobě neutropenie, gastrointestinálních potíží, hepatotoxicity a iontové dysbalance [409].

2.7.2.4.3. Pembrolizumab

Tato monoklonální protilátka s humánním původem je v současnosti doporučována jako léčba volby u rekurentních, diseminovaných a neresekovatelných nádorů. Svým účinkem napomáhá zlepšit funkci imunitního systému a to tak, že se naváže na PD-1, znemožní tak navázání PD-L1 a je tak zabráněno přenosu signálu vedoucímu k apoptóze T lymfocytů. Tato protilátka je využívána u metastáz či relapsů nereagujících na cis-platinu, lze ji též

kombinovat s dobrými výsledky s jinými chemoterapeutiky. Na rozdíl od klasické chemoterapie není toto léčivo zatíženo takovou mírou nežádoucích účinků. Mezi pozorované nežádoucí účinky patří například vyrážka, hypothyreoidismus, stomatitida, intersticiální pneumonie a trombóza [358]. Na stejném principu jako pembrolizumab funguje i nivolumab, který je též monoklonální protilátka cílící na PD-1 receptor. Na principu inhibice apoptózy cestou PD-1/PD-L1 funguje i další typ monoklonální protilátky darvalumab, který se váže na PD-L1. Jakmile je ligand vyblokován touto protilátkou, nemůže se navázat na PD-1 receptor a způsobit tak apoptózu. Výhodná se jeví i kombinovaná inhibice imunitních checkpointů prostřednictvím imunoterapie. Například monoklonální protilátky proti CTLA-4 receptorům (ipilimumab) se běžně nevyznačují vysokou účinností, ale v kombinaci s nivolumabem (anti-PD-1) jsou výsledky léčby lepší.



Obrázek 8 - Kresba znázorňující interakci mezi T-lymfocytem a antigen prezentující buňkou a cesty ovlivnění jeho funkce

2.8. Chirurgická léčba

Ideální léčebná modalita u pacientů s OSCC je stanovována individuálně, zejména na základě klinického stadia onemocnění. Velice žádoucí je mezioborová spolupráce již při plánování terapie, v případě pokročilých tumorů jde v tomto případě víceméně o nutnost [410]. Neustále se rozvíjející obory medicíny s sebou nesou čím dál tím užší specializaci jednotlivých odborníků, a pokud se podaří vybudovat fungující síť mezioborové spolupráce, lze dosahovat maximálně možných pozitivních léčebných výsledků [411]. Léčba pacientů s diagnózou OSCC je komplexní a jsou do ní zapojeny obory z téměř celého spektra medicíny, vždy je nutná spolupráce radiologa, anesteziologa, onkologa a maxilofaciálního chirurga v přímé souvislosti s léčbou, ale velice často jsou potřební i jiní odborníci, jako třeba plastičtí chirurgové, internisté, gastroenterologové, nutricionisté, oční a ORL specialisté, zubní lékaři, všeobecní a specializovaní chirurgové, psychologové a psychiatři, logopedi, rehabilitační pracovníci a celá řada dalších odborností. V současné době je zlatým standardem a léčebnou modalitou s největším procentem úspěšnosti quoad sanationem chirurgická léčba, nejlepší výsledky má v počátečních stadiích, s přibývajícím stupněm onemocnění klesá i úspěšnost nejen chirurgické léčby. Principem těchto operací je kompletní odstranění nádorových buněk z těla pacienta a to jak z lokality primárního výskytu nádoru tak i z chirurgicky dosažitelných a potencionálně postižených jiných anatomických struktur, nejčastěji svodné krční lymfatické uzliny. Na rozdíl od kurativního chirurgického přístupu je paliativní chirurgická terapie v případě OSCC využívána zcela vzácně (nejčastěji ve formě zajištění dýchacích cest) [412]. Zhodnocení šance na úspěšné chirurgické odstranění nádoru, tedy operabilita, by se mělo provádět nejen s ohledem na technickou proveditelnost, ale i na základě rozsahu předpokládané zátěže pro pacienta. Výrazně mutilující výkony, i když vedou k vyléčení pacienta, významně a neúměrně snižují kvalitu života a i v době pokročilých rekonstrukčních možností nelze každý technicky odstranitelný tumor považovat za operabilní. Další otázkou je únosnost pacienta k rozsáhlé operaci z celkového zdravotního stavu a v neposlední řadě rozhoduje o léčebné strategii též přání pacienta [413]. Výkon by měl být důkladně naplánován s maximálním využitím všech prostředků vedoucích k optimálnímu zajištění pacienta během terapie, naplánování rekonstrukce defektu a správného stanovení rozsahu výkonu, což je předmětem této práce.

Kompletní odstranění nádoru je v některých případech a vzhledem ke schopnostem šíření nádorových buněk popsaných dříve relativně obtížné. Cílem chirurga je dosáhnout čistého resekcčního okraje a odstranění všech případných metastáz, tato problematika byla již z větší části probána v kapitole 2.6.1.10., 2.6.1.2. a 2.4.. Strategie operace se rovněž liší mezi jednotlivými lokalitami primárního nádoru a to s ohledem na různé anatomické poměry a potřeby rekonstrukce, ale i odlišné vzory metastazování. Jednotlivé oblasti výskytu OSCC lze rozdělit dle MKN do šesti skupin jak je patrné z následující tabulky číslo 7.

Tabulka 7 - MKN-10 2023 10. revize Mezinárodní klasifikace nemocí, česká verze,
platnost od 1. 1. 2023

C00 - ret	C00.3 Horní ret, vnitřní strana C00.4 Dolní ret, vnitřní strana C00.5 Ret neurčen, vnitřní strana C00.6 Ústní koutek C00.8 Léze přesahující ret C00.9 Ret NS
C02 - jazyk	C02.0 Hřbetní strana jazyka C02.1 Hrana jazyka C02.2 Spodní strana jazyka C02.3 Přední dvě třetiny jazyka, část NS C02.4 Jazyková mandle C02.8 Léze přesahující jazyk C02.9 Jazyk NS
C03 - dásěň	C03.0 Horní dásěň C03.1 Dolní dásěň C03.9 Dásěň NS
C04 – spodina dutiny ústní	C04.0 Přední část spodiny ústní C04.1 Postranní část spodiny ústní C04.8 Léze přesahující spodinu ústní C04.9 Spodina ústní NS
C05 - patro	C05.0 Tvrdé patro C05.1 Měkké patro C05.2 Čípek (uvula) C05.8 Léze přesahující patro C05.9 Patro NS
C06 – jiné a neurčené části úst	C06.0 Šliznice tváře C06.1 Ústní předsíň – vestibulum oris C06.2 Retromolární oblast C06.8 Léze přesahující jiné a neurčené části úst C06.9 Ústa NS

Dle výsledku operace a vlastností tumoru patrných prostřednictvím histopatologického vyšetření se dále rozhoduje o adjuvantní terapii, rozvahový algoritmus vychází z doporučení NCCN a byl již dříve zmiňován. Neméně důležitou otázkou v chirurgické léčbě je i poresekční rekonstrukce chybějících tkání. Zatím neexistuje celosvětový konsenzus na konkrétní podobu resekčně/rekonstrukční chirurgie v jednotlivých případech, do jisté míry se zde projevují zvyklosti jednotlivých pracovišť. V současnosti jsou preferovanou rekonstrukční technikou volné tkáňové přenosy a na některých pracovištích jsou používány i na menší defekty, jak je patrné například z rekonstrukčních guidelines Spojeného Království [414]. Z některých prací je patrné, že pokud resekující chirurg ví, že bude následovat rekonstrukce volným tkáňovým přenosem, a zejména pokud rekonstrukci provádí jiný chirurg, bývá dosaženo větší vzdálenosti resekčního okraje od invazivního nádoru [415]. Existuje celá řada studií ohledně rozsahu prováděných resekcí a rekonstrukcí, výsledky terapie jsou ale pro nehomogenní nastavení parametrů jednotlivých studií obtížně porovnatelné. Určitou představu o používaných léčebných konceptech přináší některé srovnávací studie [416,417].

3. Hypotézy a cíle práce

Cílem práce bylo provést relevantní zhodnocení výsledků chirurgické terapie u pacientů trpících OSCC, kteří byli na naší klinice chirurgicky léčeni v určitém časovém horizontu a nalézt možnost optimalizace této léčby. Hlavní myšlenkou našeho výzkumu je premisa, že použití přirozené autofluorescence při chirurgické terapii OSCC povede k přesnějšímu stanovení rozsahu nádorových změn ve slizniční rovině a tím ke zvýšení úspěšnosti této terapie. K ověření tohoto předpokladu byla stanovena nulová hypotéza, že není rozdílů v léčebných výsledcích chirurgické terapie u pacientů léčených s pomocí přirozené autofluorescence a těch, kteří byli léčeni konvenčními metodami. Tuto hypotézu jsme se pokusili vyvrátit porovnáním shromážděných dat týkajících se výsledků operace pacientů trpících OSCC, náhodně rozdělených do studijní a kontrolní skupiny. Za tímto účelem byla vypracována metodika výzkumu a byl shromážděn dostatečně početný soubor pacientů k provedení komparativní randomizované studie. Kritériem hodnocení úspěchu léčby pak byla stanovena kvalita histologického resekcčního okraje.

4. Materiál a metodika

Tato pilotní prospektivní randomizovaná studie byla provedena na Stomatologické klinice Fakultní nemocnice Plzeň, Lékařské fakulty v Plzni Univerzity Karlovy ve spolupráci se Šiklovým ústavem patologie Lékařské fakulty v Plzni Univerzity Karlovy. Pacienti byli zařazeni do naší studie na základě splnění nastavených inkluzních kritérií, která byla následující:

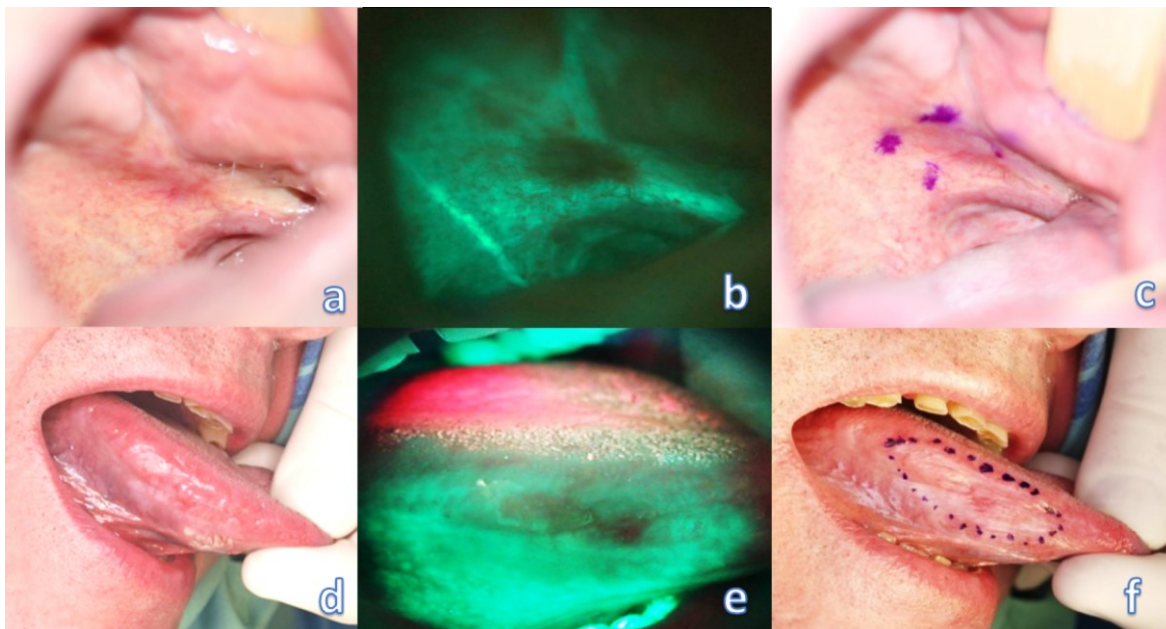
- věk nad 18 let
- histologicky ověřený spinocelulární karcinom dutiny ústní
- bez známek zánětu nebo traumatizace okolní sliznice
- bez předchozí operace v této lokalitě
- bez prodělané radioterapie nebo chemoterapie pro onemocnění hlavy a krku
- podepsaný informovaný souhlas
- indikace k chirurgické léčbě a její provedení
- lokalizace onemocnění na anatomických místech dutiny ústní, která lze přímo zobrazit pomocí bílého světla i fluorescenčního vizualizačního zařízení (dle MKN lokality kódované diagnózami C00 až C06)
- vyšetření přístrojem VELscope před operací pro studijní skupinu

Dalšími registrovanými parametry byly lokalizace nádoru, pohlaví, věk, TNM klasifikace a grade onemocnění podle Union for International Cancer Control (UICC), osmé vydání, 2017. Kritéria pro zařazení do kontrolní skupiny byla stejná, kromě vyšetření přístrojem VELscope. Pro rozdělení pacientů do uvedených skupin byla použita jednoduchá randomizace stylem sudá a lichá. Tímto způsobem jsme shromáždili dvě skupiny (studijní a náhodnou kontrolní skupinu) o celkovém počtu 122 pacientů léčených v období let 2016 – 2022 na oddělení Ústní, čelistní a obličejové chirurgie Stomatologické kliniky LFP UK a FN Plzeň. Všichni pacienti podstoupili standardní předoperační vyšetření včetně stagingu na základě klinického vyšetření a zobrazení (ultrasonografie, počítačová tomografie, magnetická rezonance nebo hybridní pozitronová emisní tomografie). U pacientů léčených do roku 2017 byla před statistickým zpracováním dat provedena revize a úprava stagingu dle aktuálně platného konceptu TNM klasifikace. Pacienti byli detailně informováni o povaze onemocnění, léčebné strategii a následné péči a na základě tohoto poučení podepsali příslušný formulář informovaného souhlasu se smlouvou o ochraně osobních údajů. Návrh této studie byl schválen Etickou komisí ve výzkumu Stomatologické kliniky FN Plzeň a LF UK v Plzni pod kódem 333/2020. Tato studie byla provedena v souladu s Helsinskou deklarací. Předoperační vyhodnocení nádorových okrajů pomocí přístroje VELscope (model č. V1, LED Dental, Inc., 997 Seymour Str., Suite 250, Vancouver, BC V6B 3, Kanada, obrázek 9) pak zajistil zkušený chirurg vyškolený v systému VELscope u každého pacienta studijní skupiny. Toto vyšetření se doporučuje provádět v temné místnosti, aby se předešlo dalšímu rušení osvětlením a získal se nejlepší kontrast vyšetřovaného pole. Při tomto vyšetření byl rozsah ztráty autofluorescence označen trvalým (tetování) nebo přechodným (genciánová violeť - přímo před operací) barvením, případně označen monopolárním elektrokoagulačním přístrojem přímo na začátku operace v celkové anestezii (modalita značení byla v jednotlivých případech zvolena podle míry spolupráce pacienta a preferencí

chirurga) a následně byl změřen největší pozorovaný rozměrový rozdíl mezi vytvořenou značkou a hranicí nádoru patrnou pod denním světlem (obrázek 10).



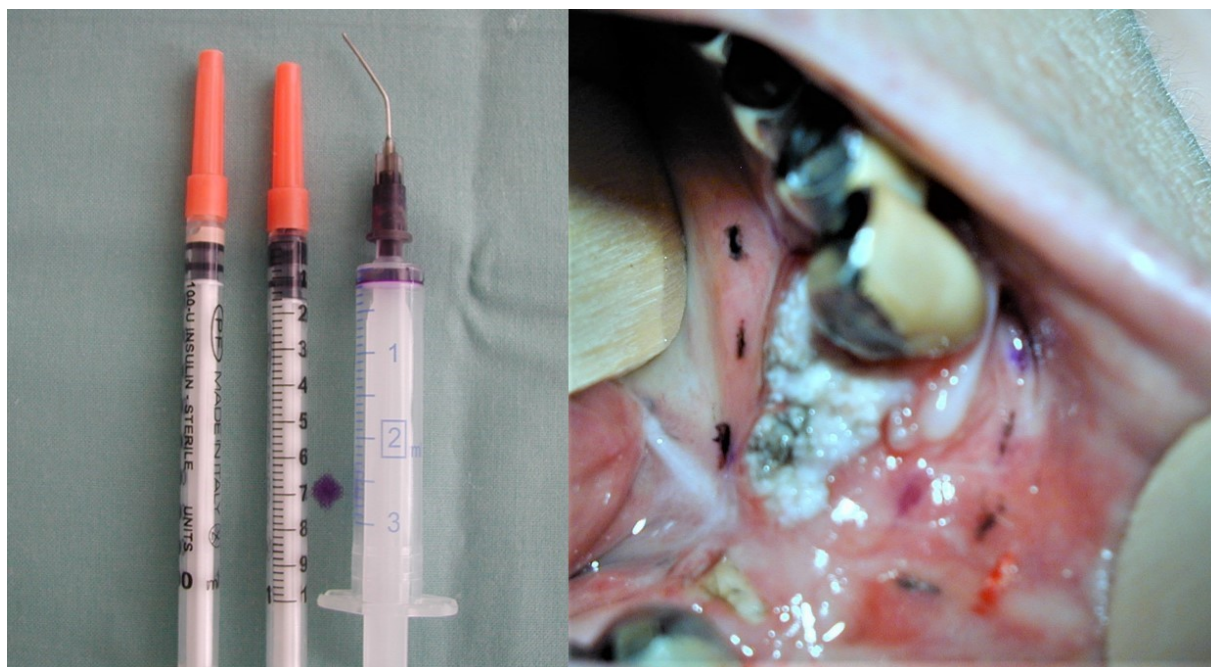
Obrázek 9 - Příklad VELscope používaný k vyšetření přirozené autofluorescence



Obrázek 10 - Optické vyšetření sliznice dutiny ústní postižené nádorem.

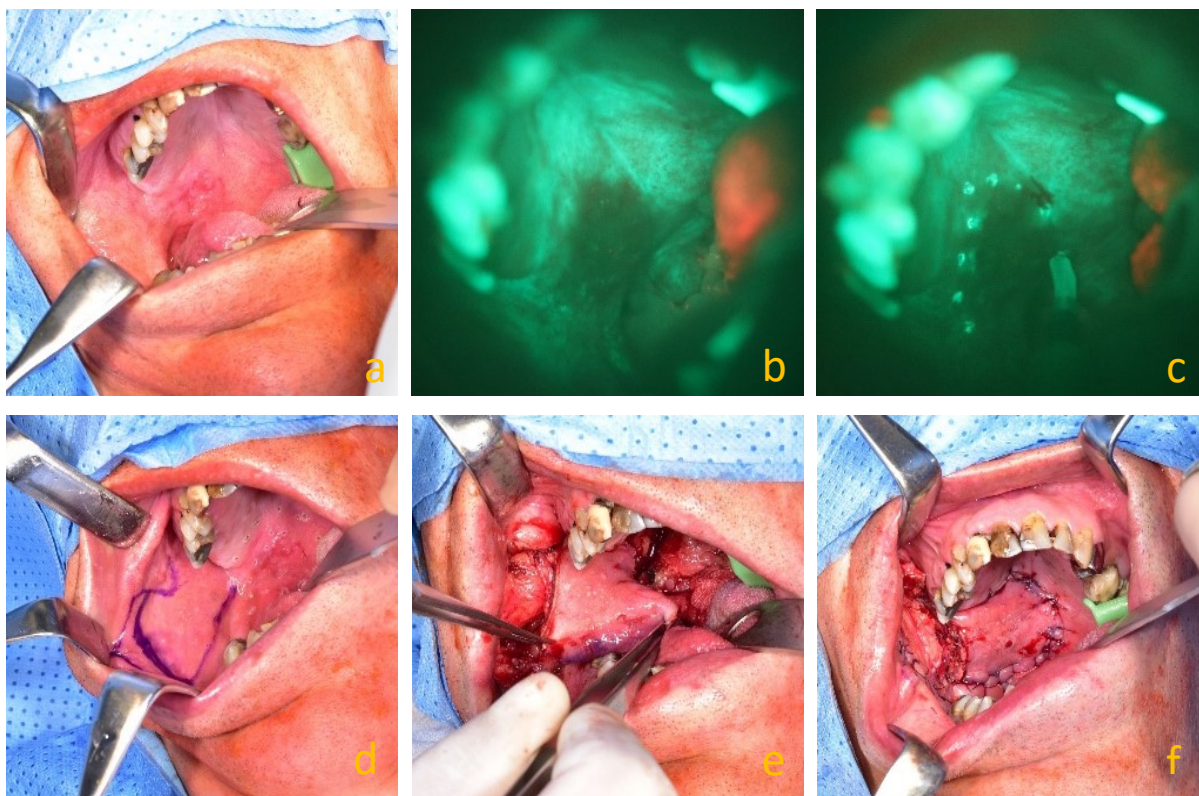
- a) obtížně rozeznatelný invazivní OSCC palato-alveolární oblasti pod bílým světlem; b) zřetelně viditelná ztráta fluorescence postižené oblasti; c) přechodné označení rozsahu ztráty fluorescence; d) obtížně viditelný invazivní OSCC pravého lingválního okraje pod bílým světlem; e) jasně viditelná ztráta fluorescence postižené oblasti; f) přechodné označení rozsahu ztráty fluorescence

Ve snaze zkrátit operační dobu a tím i dobu celkové anestezie pacienta jsme vyvinuli techniku trvalého tetování, které lze provést i několik dní před operací. Inzulínová stříkačka byla naplněna malým množstvím konvenčního tetovacího barviva a malý povrchový škrábanec na sliznici jehlou injekční stříkačky byl přímo obarven zvoleným barvivem. Pro okamžitou orientaci vzorku a lepší spolupráci s patologem byly použity různé barvy pro každé místo vzorku (obrázek 11). Zákrok byl proveden v topické anestezii (lidokainový sprej 10 g / 100 ml) pro vyšší komfort pro pacienta. Interferenci mezi značením a histologickým vyšetřením okraje bylo zabráněno vedením řezu minimálně 3 mm od provedených značek směrem od nádoru, jak je popsáno dále. Žádný z pacientů neměl peri- nebo postprocedurální bolestivé vjemy, nezaznamenali jsme žádné zdravotní komplikace ani negativní ovlivnění nádorového ložiska tímto výkonem omezující možnost a přesnost histopatologického vyšetření. Autofluorescenční vyšetření je třeba provést ještě před vlastním zahájením operace, neboť při operaci dochází ke zhmoždění a i jiné změně slizničních okrajů negativně ovlivňující interpretaci vyšetření. Úhel dopadajícího excitačního paprsku vůči povrchu sliznice by se měl ideálně blížit 90 stupňům, ale dle našeho pozorování ani dopad v šikmém úhlu nemá vliv na kvalitu obrazu a rozměr pozorovaného výhledu.



Obrázek 11 - Trvalé označení ztráty fluorescence tetovací technikou. Vlevo větší stříkačka naplněná malým množstvím genciány, inzulinové stříkačky naplněné tetovacími barvami; Vpravo spinaliom alveolu dolní čelisti vlevo po značení výbledu různými tetovacími barvivy pro okamžitou orientaci vzorku

Dále byla provedena excize skalpelem z uhlíkaté oceli nebo šetrná vysokofrekvenční elektrochirurgická excize (obrázek 12), a to, jak již bylo řečeno, minimálně 3 mm za značkami ve sledované skupině (v kontrolní skupině byla excize provedena dle mezinárodního konvenčního doporučení minimálně 10 mm za pouhým okem viditelnou hranicí tumoru) a vzorek byl odeslán dedikovanému patologovi k histopatologickému vyšetření na Šiklově ústavu patologie. Po barvení hematoxylinem-eosinem a imunohistochemickém vyšetření byla patologem hodnocena zejména typizace, grading, perineurální a intravaskulární invaze a vzdálenost mezi invazivním nádorem či CIS a resekčním okrajem. Veškerá sledovaná data získaná během léčby se zaměřením na výsledky histopatologického vyšetření, charakteristiky okolí nádoru patrně pomocí přístroje VELscope a další zmiňované údaje byly zpracovány u zkoumané i kontrolní skupiny profesionálním statistikem. Naše pozornost byla fokusována na zhodnocení nárůstu rozsahu viditelnosti nádorových změn při srovnání bílého světla versus VELscope a především na rozdíly v kvalitě resekčního okraje obou skupin z histopatologického hlediska. Jak již bylo zmíněno, pro hodnocení stavu chirurgických okrajů byl použit model ICCR.



Obrázek 12 - Sekvence jednotlivých terapeutických kroků za použití autofluorescence od stanovení resekcčního okraje po rekonstrukci vzniklého defektu: a) oblast měkkého patra vpravo postižená OSCC, hůře patrným pod normálním osvětlením; b) lépe patrný rozsah výbledu fluorescence značící maligní změny sliznice; c) značení hranice výbledu vysokofrekvenčním elektrickým chirurgickým nástrojem; d) design laloku pro rekonstrukci vzniklého defektu; e) resekovaný nádor a rotace axiálně cévně zásobeného svalově/slizničního tvářového laloku do resekcčního defektu; f) výsledný stav po adaptaci a sutuře laloku a krytu odběrového místa tvářovým tukovým tělesem

5. Výsledky

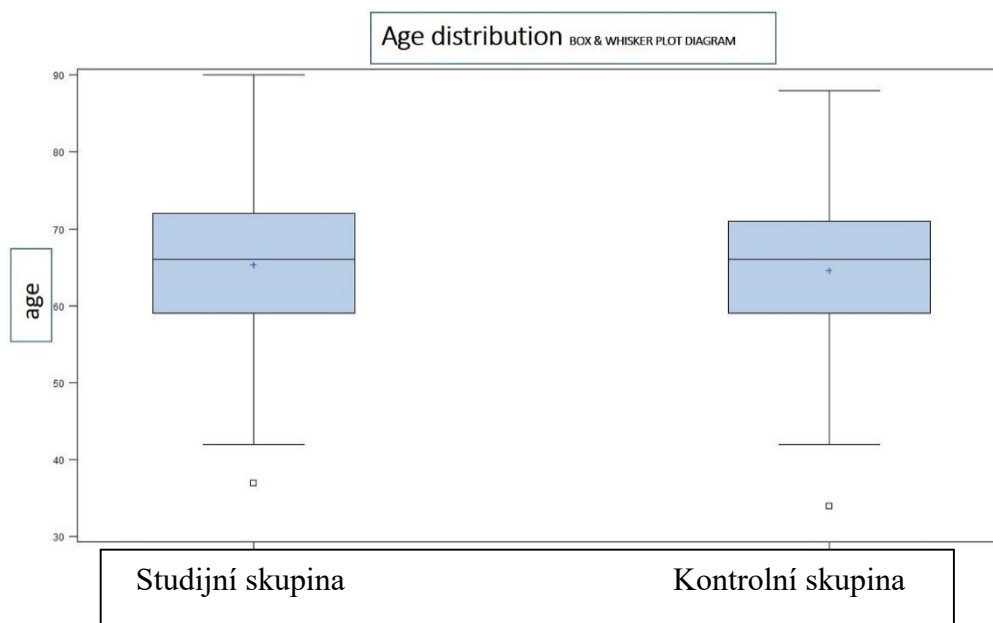
5.1. Vlastnosti souboru

Distribuce pohlaví odhalila převahu mužů u obou skupin, tedy 40 mužů a 21 žen ve studijní skupině a 36 mužů a 25 žen v kontrolní skupině trpících OSCC (tabulka 8). Fisherův exaktní test s p-hodnotou 0,5754 neprokázal žádný významný rozdíl mezi těmito dvěma skupinami.

Tabulka 8 - Zastoupení pohlaví v obou skupinách

Pohlaví	Četnost – absolutní počet/percentil		Celkem
	Studijní skupina	Kontrolní skupina	
Muži	40 / 65.57	36 / 59.02	76
Ženy	21 / 34.43	25 / 40.98	46
Celkem	61	61	122

Průměrný věk ve sledované skupině byl 65,3 let s rozmezím od 37 do 90 let a 64,3 let s rozmezím od 34 do 88 let v kontrolní skupině (graf 5). Podobnou věkovou distribucí obou skupin demonstruje p-hodnota 0,7845 podle Wilcoxon Two Sample testu.



Graf 5 - Krabicový graf znázorňující věkové rozložení v obou skupinách

Nejvíce postiženým místem dutiny ústní byl v obou skupinách jazyk (tabulka 9). Podle p-hodnoty 0,6183 vypočítané pomocí Chi-Square testu jsme nezaznamenali žádný statisticky významný rozdíl.

Tabulka 9 - Kódové označení distribuce původu nádoru v dutině ústní

Diagnóza	Četnost		Celkem
	absoltní počet/percentil		
	Studijní skupina	Kontrolní skupina	
C02 – jazyk	19/31.15	21/34.43	40
C021 – hrana jazyka	13/21.31	15/24.59	28
C022 – spodní strana jazyka	1/1.64	3/4.92	4
C023 – přední 2/3 jazyka	1/1.64	1/1.64	2
C028 – léze přesahující jazyk	1/1.64	2/3.28	3
C029 – jazyk nespecifikováno	3/4.92	0/0	3
C03 – gingiva	18/29.51	14/22.95	32
C030 – gingiva horní čelisti	2/3.28	3/4.92	5
C031 – gingiva dolní čelisti	15/24.59	10/16.39	25
C039 – gingiva nespecifikováno	1/1.64	1/1.64	2
C04 – spodina dutiny ústní	18/29.51	18/29.51	36
C040 – přední část	4/6.56	7/11.48	11
C041 – postranní část	8/13.11	5/8.2	13
C048 – léze přesahující spodinu dutiny ústní	5/8.2	6/9.84	11
C049 - spodina ústní nespecifikováno	1/1.64	0/0	1
C05 – patro	2/3.28	1/1.64	3
C050 – tvrdé patro	1/1.64	0/0	1
C051 – měkké patro	1/1.64	1/1.64	2
C06 – jiné a neurčené části úst	3/4.92	7/11.48	10
C060 – tvářová sliznice	0/0	2/3.28	2
C062 – retromolární oblast	2/3.28	2/3.28	4
C068 – léze přesahující jiné a neurčené části úst	1/1.64	3/4.92	4
C09 – tonzila	1/1.64	0/0.00	1
celkem	61	61	122

U všech nádorů bylo hodnoceno stádium a grade tumoru a situace v obou skupinách je uvedena v příslušných tabulkách (tabulka 10, 11). V obou skupinách byla nejčastěji zastižena počáteční stadia, ale i stádium IVa bohužel představovalo významnou část všech zachycených tumorů. Jedním z důvodů tohoto fenoménu je intimní souvislost orální mukózy a čelistí a kostní invaze v podstatném procentu posouvala stádium tumoru do IV stadia. Tyto popisované charakteristiky, tedy stádium a grade byly u obou skupin porovnány pomocí Chí – kvadrát testu, hodnoty $p = 0.1472$, respektive 0.3587 neprokázaly žádný statistický rozdíl mezi oběma skupinami.

Tabulka 10 - Distribuce stadia nádoru v obou skupinách

Stádium	Četnost – absolutní počet/percentil		Celkem
	Study group	Control group	
I	16 / 26.23	8 / 13.11	24
II	15 / 24.59	14 / 22.95	29
III	6 / 9.84	13 / 21.31	19
IVa	22 / 36.07	23 / 37.70	45
IVb	1 / 1.64	3 / 4.92	4
IVc	1 / 1.64	0 / 0.00	1
Celkem	61	61	122

Tabulka 11 - Distribuce stupně nádoru v obou skupinách

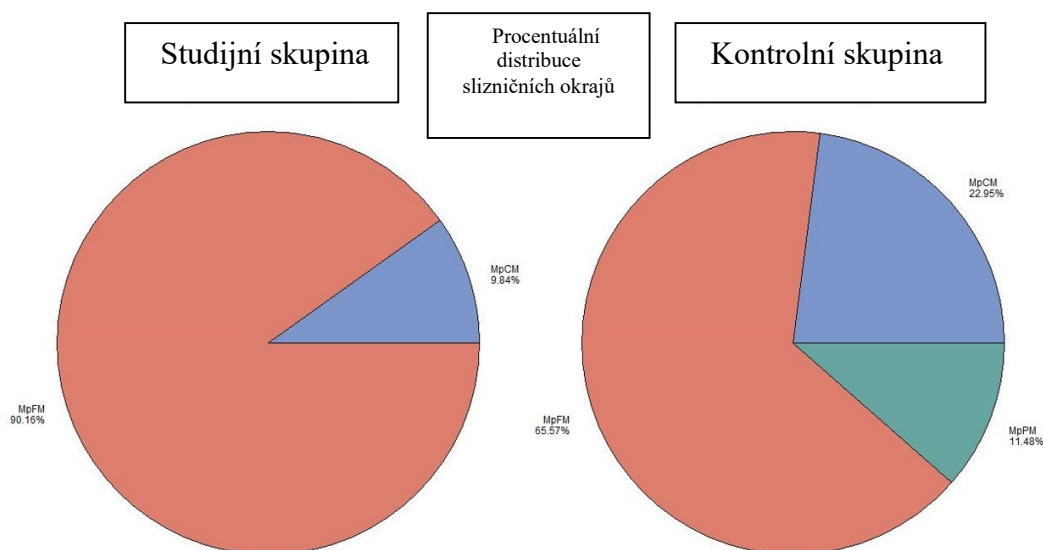
Grade	Četnost – absolutní počet/percentil		Celkem
	Studijní skupina	Kontrolní skupina	
G1	26 / 42.62	28 / 45.90	54
G2	31 / 50.82	25 / 40.98	56
G3	4 / 6.56	8 / 13.11	12
Celkem	61	61	122

Statistická analýza neodhalila žádný významný rozdíl mezi oběma skupinami, pokud jde o vlastnosti popsané výše.

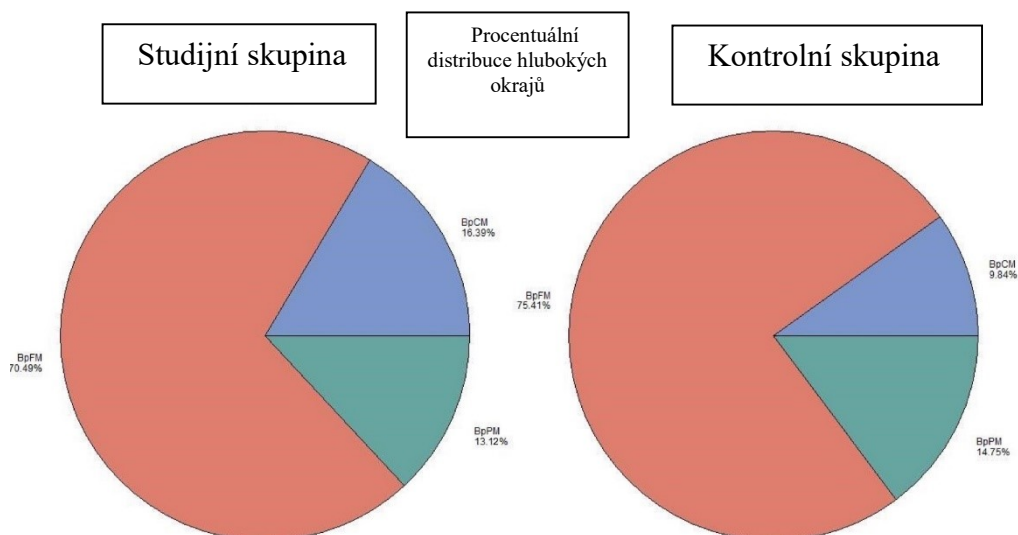
5.2. Srovnání výsledků léčby

Ztráta fyziologické fluorescence měla za následek zvětšení resekce v průměru o 4,68 mm (1 – 12 mm) ve srovnání s polychromatickým světlem a taktilním hodnocením hranic tumoru. Souhrnná data použita ke statistickému zhodnocení nárůstu rozměru excidované plochy jsou předložena v příloze číslo 1.

Histopatologické vyšetření neodhalilo žádný případ pPM (n = 0; 0 %), šest případů pCM (n = 6; 9,84 %) a 55 vzorků bylo pFM (n = 55; 90,16 %) ve slizničním resekčním okraji u studijní skupiny. Situace v kontrolní skupině byla následující: pPM (n = 7; 11,48 %), pCM (n = 14; 22,95 %), pFM (n = 40; 65,57 %) (graf 6). Přestože autofluorescenční technika nemá vliv na hluboké chirurgické okraje, pro komplexnost je uvedena i situace hlubokého okraje – ve studijním souboru jsme se setkali s pPM v osmi případech (n = 8; 13,12 %), s pCM v deseti případech (n = 10; 16,39 %) a pFM ve 43 případech (n = 43; 70,49 %), v kontrolní skupině je situace následující: pPM (9; 14,75 %), pCM (6; 9,84 %), pFM (46; 75,41 %) (graf 7). Nebyly zaznamenány žádné statisticky významné rozdíly v kvalitě resekčního okraje ve vztahu k různým anatomickým lokalizacím původu primárního nádoru.



Graf 6 - Stav slizničních okrajů; červená - MpFM, modrá – MpCM, zelená – MpPM



Graf 7 - Stav hlubokých okrajů; červená - MpFM, modrá – MpCM, zelená – MpPM

5.3. Zhodnocení významu použití autofluorescence

Podle očekávání naše studie prokázala statisticky významný rozdíl mezi oběma sledovanými skupinami pouze ve vrstvě sliznice (tabulka 12). Stanovená hypotéza H₀, že mezi sledovanými dvěma skupinami není žádný rozdíl v poměru MpFM (slizniční patologicky čistý okraj) k MpCM+MpPM (slizniční patologicky blízký a pozitivní okraj) byla testována pomocí Fisherova exaktního testu a s výslednou p-hodnotou 0,019 byla hypotéza H₀ zamítnuta. Byl tedy prokázán statisticky významný rozdíl mezi oběma skupinami. Riziko přítomnosti blízkých nebo pozitivních laterálních okrajů tak bylo v kontrolní skupině 4,8krát vyšší než ve skupině zkoumané. V hlubokých resekcích okrajích nebyl žádný významný rozdíl. Navzdory větší resekcí ve studované skupině nedošlo k žádnému významnému zvýšení pooperační morbiditity, a to i s ohledem na polykání ani řeč oproti kontrolní skupině. Celkový výsledek léčby, pokud jde o chirurgickou eradikaci nádoru, byl významně lepší ve sledované skupině ve srovnání s kontrolní skupinou.

Tabulka 12 – Porovnání dosažených výsledků u obou skupin u slizničních okrajů

Kvalita okraje	Četnost – absolutní počet/percentil		Celkem
	Studijní skupina	Kontrolní skupina	
MpFM	55 / 90.16	40 / 65.57	54
MpCM	6 / 9.84	14 / 22.95	56
MpPM	0 / 0.00	7 / 11.48	12
Celkem	61	61	122

6. Diskuse

Nejlepší kurativní výsledky má multimodální terapie OSCC s akcentem na radikální chirurgickou excizi tumoru [418,419]. Včasná detekce, rychlé stanovení stadia a individuální nastavení léčebného plánu může snížit riziko kurativního selhání a enormního zhoršení kvality života pacienta [338]. Díky vědeckému pokroku se do klinického využití dostaly nové vyšetřovací techniky i moderní chirurgické přístupy [420]. Jedna z moderních technik popsanych v této studii – slizniční autofluorescence – má potenciál pomoci lékařům včas odhalit slizniční malignitu v dutině ústní a kromě toho přesněji určit hranice nádoru [421–424]. Hlavním cílem chirurga při chirurgické léčbě OSCC je dosáhnout resekce R0, tedy v ideálním případě pFM [425]. Přítomnost reziduálních nádorových buněk je považována za jeden z nejdůležitějších negativních prognostických faktorů. Vysoký počet studií srovnávajících míru lokální recidivy se stavem chirurgického okraje u OSCC našel silnou korelaci, ačkoli absolutní počet lokálních recidiv a kritéria použitá k definování pozitivních okrajů se v jednotlivých studiích liší [342,343,426]. Některé studie překvapivě neprokázaly žádnou korelaci mezi recidivou a marginálním stavem [345]. Stále není jasné, jak velká by měla být vzdálenost mezi chirurgickým okrajem a nádorem, a chirurg musí najít rovnováhu mezi potřebou získat adekvátní resekční okraje nádoru a snahou zachovat funkci a kvalitu života a omezit negativní kosmetický dopad [427–434]. Navzdory mnoha provedeným studiím týkajících se problematiky resekčních okrajů zatím neexistují žádné přesné a globálně platné guidelines. Nastavení rozměru mikroskopického bezpečnostního okraje zdravých tkání kolem tumoru je diskutováno v řadě studií a pohybuje se v rozmezí 10 – 2 mm, nejčastěji užívaným a uznávaným konceptem je 5 mm lem zdravé tkáně od invazivního okraje nádoru, i když jednoznačný vědecký základ pro tuto vzdálenost v současnosti chybí. Především kvůli smrštění vzorku a nekohezivnímu šíření „neviditelných“ buněk karcinomu by měl být vyříznutý okraj makroskopicky nezměněné sliznice větší než zmíněný limit pro pFM vzdálenost. Makroskopicky se doporučuje udržovat vzdálenost resekční linie od tumoru alespoň 10 mm, aby nedošlo k neúplné resekci [435]. Peroperační hodnocení situace resekčních okrajů lze provést několika metodami. Použití peroperační biopsie - zmrazených řezů (FS) bývalo zlatým standardem, bylo celosvětově akceptováno, ale jak zdůraznil Yahalom et al. [436], postup není standardizován. Otázkou diskuse je také místo, kde by měla být FS odebrána, zda to má být resekční lůžko nebo okraj vzorku [437]. Dalším problémem je riziko nesprávné identifikace oblasti určené k reexcizi v případě pozitivních okrajů [438] a časové náročnosti operace. Z tohoto důvodu je snaha o nalezení příznivější metody pro intraoperační stanovení adekvátních resekčních okrajů velmi aktuální a výzkum je v tomto směru velmi dynamický. Existuje několik dalších metod, které byly navrženy pro lepší dosažení pFM při chirurgické léčbě OSCC a nejdůležitější z nich byly již dříve popsány. Na téma použití autofluorescence bylo publikováno několik odborných prací, jejich počet je zatím nevelký a design není uniformní, což limituje porovnatelnost výsledků. V roce 2016 byl publikován výzkum profesorky Poh, která se intenzivně věnuje tématu autofluorescence a účastnila se i vývoje systému VELscope. V své práci hodnotí použití autofluorescence u počátečních stadií OSCC, a to maximálně do velikosti T2. V této studii zaznamenala signifikantní rozdíl u pacientů léčených s použitím autofluorescence. Ve studijní skupině prokázala snížení rizika lokální recidivy u OSCC v 3letém časovém horizontu, a to konkrétně ze 40,6 % na 6,5 % a byl patrný i pokles mortality, i když statisticky málo významný [421]. Další práce hodnotící úspěšnost správného určení slizniční hranice u OSCC byla publikována v roce 2021. V této práci byly porovnávány hodnoty získané pomocí autofluorescence, barvení HE a molekulární vyšetření sliznice a rovněž tato studie prokazuje účinnost této metody [423]. Nadále probíhá výzkum v této oblasti a je očekáván

další posun ve smyslu unifikování použití této technologie a zvýšení její účinnosti, například kombinací s jinými vyšetřovacími metodami.

7. Závěr

Naše zjištění podporují hypotézu o zlepšení výsledků operace ve sledované skupině, v oblasti slizničních okrajů jsme oproti kontrolní skupině byli při chirurgické léčbě 4,8krát úspěšnější ve smyslu dosažení pFM. Tímto byl zjištěn statisticky významný rozdíl ve studii a kontrolní skupině v úspěšnosti chirurgické léčby [439]. V této studii je prokázána účinnost slizniční autofluorescence, jsou prezentovány podmínky potřebné k dosažení optimálních výsledků vyšetření a je navržen způsob značení a možný minimální odstup resekční linie od značené hranice výbledu. V kombinaci s námi vyvinutou metodou permanentního tetování patologických změn viditelných pod VELscope, jak je popsáno výše, může tato technika ještě více zpřesnit orientaci preparátu, usnadnit komunikaci s patologem a zkrátit operační čas a tím ještě zvýšit schopnost chirurga úspěšně léčit pacienta s onemocněním OSCC.

8. Seznam obrázků

- Obrázek 1 - Regionální rozložení incidence v rámci ČR (Zdroj dat: SVOD, ÚZIS ČR)
- Obrázek 2 - Schématický nákres principu metody přímé autofluorescence (Převzato z <https://velscope.com/wp-content/uploads/2022/04/Sell-Sheet-Mar-31-2022-Rev-D.pdf>)
- Obrázek 3 - Schéma zachycující nádorové mikroprostředí v souvislosti s kapilárním řečištěm a vaskulární invazí
- Obrázek 4 - Nomogram k predikci 3- a 5letého celkového přežití u pacientů po chirurgické terapii OSCC (Zdroj: Zhang XY, Xie S, Wang DC, Shan XF, Cai ZG. Prognosis and Nomogram Prediction for Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma: A Cohort Study. *Diagnostics (Basel)*. 2023, 17;13(10):1768. doi: 10.3390/diagnostics13101768)
- Obrázek 5 - Léčebný algoritmus u stadia T1-2, N0 (převzato z doporučení NCCN, verze 2/2023, Version 2.2023, 05/15/2023 © 2023 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN®))
- Obrázek 6 - Léčebný algoritmus u stadia T3, N0; T1 - 3, N1 – 3; T4a, N0 – 3 (převzato z doporučení NCCN, verze 2/2023, Version 2.2023, 05/15/2023 © 2023 National Comprehensive Cancer Network® (NCCN®))
- Obrázek 7 - Účinek cisplatinu (Zdroj: Ghosh, S. Cisplatin: The First Metal Based Anticancer Drug. *Bioorg. Chem.* 2019, 88, 102925, doi:<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>)
- Obrázek 8 - Kresba znázorňující interakci mezi T-lymfocylem a antigen prezentující buňkou a cesty ovlivnění jeho funkce
- Obrázek 9 - Přístroj VELscope používaný k vyšetření přirozené autofluorescence
- Obrázek 10 - Optické vyšetření sliznice dutiny ústní postižené nádorem
- Obrázek 11 - Trvalé označení ztráty fluorescence tetovací technikou
- Obrázek 12 - Sekvence jednotlivých terapeutických kroků za použití autofluorescence od stanovení resekcčního okraje po rekonstrukci vzniklého defektu

9. Seznam tabulek

- Tabulka 1 - Změny v klasifikaci OPMD
- Tabulka 2 - Možné příčiny bílé/rudé plochy kromě leukoplakie
- Tabulka 3 - Nejčastější fluorofory orální mukózy
- Tabulka 4 - Definitivní radioterapie - teleradioterapie
- Tabulka 5 - Definitivní radioterapie – brachyradioterapie
- Tabulka 6 - Postoperční teleradioterapie (měla by proběhnout do 6 týdnů po operaci)
- Tabulka 7 - MKN-10 2023 10. revize Mezinárodní klasifikace nemocí, česká verze, platnost od 1. 1. 2023
- Tabulka 8 - Zastoupení pohlaví v obou skupinách
- Tabulka 9 - Kódové označení distribuce původu nádoru v dutině ústní
- Tabulka 10 - Distribuce stadia nádoru v obou skupinách
- Tabulka 11 - Distribuce stupně nádoru v obou skupinách
- Tabulka 12 - Porovnání dosažených výsledků u obou skupin u slizničních okrajů

10. Seznam grafů

- Graf 1 - Grafické znázornění celosvětové incidence a mortality jednotlivých malignit v absolutním počtu. (Zdroj dat: GLOBOCAN 2020)
- Graf 2 - Vývoj incidence v korelátu s mortalitou v čase v rámci ČR. (Zdroj dat: SVOD, ÚZIS ČR)
- Graf 3 - Celosvětové srovnání incidence v poměru na 100 000 obyvatel (Zdroj dat: SVOD, ÚZIS ČR)
- Graf 4 - Grafické znázornění nárůstu incidence v čase v absolutním počtu v ČR (Zdroj dat: SVOD, ÚZIS ČR)
- Graf 5 - Krabicový graf znázorňující věkové rozložení v obou skupinách
- Graf 6 - Stav slizničních okrajů; červená - MpFM, modrá – MpCM, zelená – MpPM
- Graf 7 - Stav hlubokých okrajů; červená - MpFM, modrá – MpCM, zelená – MpPM

11. Použitá literatura

1. Bray, F.; Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Siegel, R.L.; Torre, L.A.; Jemal, A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA. Cancer J. Clin.* **2018**, *68*, 394–424, doi:10.3322/caac.21492.
2. Maarouf, M.; Zullo, S.W.; DeCapite, T.; Shi, V.Y. Skin Cancer Epidemiology and Sun Protection Behaviors Among Native Americans. *J. Drugs Dermatol.* **2019**, *18*, 420–423.
3. Aljabab, A.S.; Nason, R.W.; Kazi, R.; Pathak, K.A. Head and Neck Soft Tissue Sarcoma. *Indian J. Surg. Oncol.* **2011**, *2*, 286–290, doi:10.1007/S13193-012-0127-5.
4. Tan, Y.; Wang, Z.; Xu, M.; Li, B.; Huang, Z.; Qin, S.; Nice, E.C.; Tang, J.; Huang, C. Oral Squamous Cell Carcinomas: State of the Field and Emerging Directions. *Int. J. Oral Sci.* **2023**, *15*, 44, doi:10.1038/s41368-023-00249-w.
5. Du, M.; Nair, R.; Jamieson, L.; Liu, Z.; Bi, P. Incidence Trends of Lip, Oral Cavity, and Pharyngeal Cancers: Global Burden of Disease 1990–2017. *J. Dent. Res.* **2020**, *99*, 143–151, doi:10.1177/0022034519894963.
6. Dyba, T.; Randi, G.; Bray, F.; Martos, C.; Giusti, F.; Nicholson, N.; Gavin, A.; Flego, M.; Neamtiu, L.; Dimitrova, N.; et al. The European Cancer Burden in 2020: Incidence and Mortality Estimates for 40 Countries and 25 Major Cancers. *Eur. J. Cancer* **2021**, *157*, 308–347, doi:10.1016/J.EJCA.2021.07.039/THE_EUROPEAN_CANCER_BURDEN_IN_2020_INCIDENCE_AND_MORTALITY_ESTIMATES_FOR_40_COUNTRIES_AND_25_MAJOR_CANCERS.PDF.
7. Ferreira e Costa, R.; Leão, M.L.B.; Sant'Ana, M.S.P.; Mesquita, R.A.; Gomez, R.S.; Santos-Silva, A.R.; Khurram, S.A.; Taylor, A.; Schouwstra, C.M.; Robinson, L.; et al. Oral Squamous Cell Carcinoma Frequency in Young Patients from Referral Centers Around the World. *Head Neck Pathol.* **2022**, *16*, 755, doi:10.1007/S12105-022-01441-W.
8. Huang, S.F.; Chien, H.T.; Cheng, S. De; Chuang, W.Y.; Liao, C.T.; Wang, H.M. EGFR Copy Number Alterations in Primary Tumors, Metastatic Lymph Nodes, and Recurrent and Multiple Primary Tumors in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *BMC Cancer* **2017**, *17*, doi:10.1186/S12885-017-3586-9.
9. Sadri, G.; Mahjub, H. Tobacco Smoking and Oral Cancer: A Meta-Analysis. *J. Res. Health Sci.* **2007**, *7*, 18–23.
10. Chaturvedi, P.; Singh, A.; Chien, C.-Y.; Warnakulasuriya, S. Tobacco Related Oral Cancer. *BMJ* **2019**, *365*, l2142, doi:10.1136/bmj.l2142.
11. Yang, I.; Sandeep, S.; Rodriguez, J. The Oral Health Impact of Electronic Cigarette Use: A Systematic Review. *Crit. Rev. Toxicol.* **2020**, *50*, 97–127, doi:10.1080/10408444.2020.1713726.
12. Tsai, K.Y.F.; Hirschi Budge, K.M.; Lepre, A.P.; Rhees, M.S.; Ajdaharian, J.; Geiler, J.; Epperson, D.G.; Astle, K.J.; Winden, D.R.; Arroyo, J.A.; et al. Cell Invasion, RAGE Expression, and Inflammation in Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC)

- Cells Exposed to e-Cigarette Flavoring. *Clin. Exp. Dent. Res.* **2020**, *6*, 618–625, doi:10.1002/cre2.314.
13. Daher, N.; Saleh, R.; Jaroudi, E.; Sheheitli, H.; Badr, T.; Sepetdjian, E.; Al Rashidi, M.; Saliba, N.; Shihadeh, A. Comparison of Carcinogen, Carbon Monoxide, and Ultrafine Particle Emissions from Narghile Waterpipe and Cigarette Smoking: Sidestream Smoke Measurements and Assessment of Second-Hand Smoke Emission Factors. *Atmos. Environ.* (1994). **2010**, *44*, 8–14, doi:10.1016/j.atmosenv.2009.10.004.
 14. Li, Y.; Hecht, S.S. Carcinogenic Components of Tobacco and Tobacco Smoke: A 2022 Update. *Food Chem. Toxicol. an Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* **2022**, *165*, 113179, doi:10.1016/j.fct.2022.113179.
 15. Asthana, S.; Labani, S.; Kailash, U.; Sinha, D.N.; Mehrotra, R. Association of Smokeless Tobacco Use and Oral Cancer: A Systematic Global Review and Meta-Analysis. *Nicotine Tob. Res. Off. J. Soc. Res. Nicotine Tob.* **2019**, *21*, 1162–1171, doi:10.1093/ntr/nty074.
 16. Ford, P.J.; Rich, A.M. Tobacco Use and Oral Health. *Addiction* **2021**, *116*, 3531–3540, doi:10.1111/add.15513.
 17. Nguyen, A.; Kim, A.H.; Kang, M.K.; Park, N.-H.; Kim, R.H.; Kim, Y.; Shin, K.-H. Chronic Alcohol Exposure Promotes Cancer Stemness and Glycolysis in Oral/Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma Cell Lines by Activating NFAT Signaling. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, doi:10.3390/ijms23179779.
 18. Personal Habits and Indoor Combustions. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. risks to humans* **2012**, *100*, 1–538.
 19. Bolesina, N.; Gatti, G.; López de Blanc, S.; Dhooge, S.; Rocha, D.; Fernandez, E.; Ferreyra, R.; Palla, V.; Grupe, V.; Morelato, R.; et al. Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) Tumors from Heavy Alcohol Consumers Are Associated with Higher Levels of TLR9 and a Particular Immunophenotype: Impact on Patient Survival. *Front. Immunol.* **2022**, *13*, 941667, doi:10.3389/fimmu.2022.941667.
 20. Yang, Z.; Sun, P.; Dahlstrom, K.R.; Gross, N.; Li, G. Joint Effect of Human Papillomavirus Exposure, Smoking and Alcohol on Risk of Oral Squamous Cell Carcinoma. *BMC Cancer* **2023**, *23*, 457, doi:10.1186/s12885-023-10948-6.
 21. Rochefort, J.; Karagiannidis, I.; Baillou, C.; Belin, L.; Guillot-Delost, M.; Macedo, R.; Le Moignic, A.; Mateo, V.; Soussan, P.; Brocheriou, I.; et al. Defining Biomarkers in Oral Cancer According to Smoking and Drinking Status. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 1068979, doi:10.3389/fonc.2022.1068979.
 22. Wolfer, S.; Kunzler, A.; Foos, T.; Ernst, C.; Leha, A.; Schultze-Mosgau, S. Gender and Risk-Taking Behaviors Influence the Clinical Presentation of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Clin. Exp. Dent. Res.* **2022**, *8*, 141–151, doi:10.1002/cre2.523.
 23. Dueñas-González, A.; Lizano, M.; Candelaria, M.; Cetina, L.; Arce, C.; Cervera, E. Epigenetics of Cervical Cancer. An Overview and Therapeutic Perspectives. *Mol. Cancer* **2005**, *4*, 38, doi:10.1186/1476-4598-4-38.
 24. Lehoux, M.; D’Abramo, C.M.; Archambault, J. Molecular Mechanisms of Human

- Papillomavirus-Induced Carcinogenesis. *Public Health Genomics* **2009**, *12*, 268–280, doi:10.1159/000214918.
25. McCance, D.J. Human Papillomaviruses and Cell Signaling. *Sci. STKE* **2005**, *2005*, pe29, doi:10.1126/stke.2882005pe29.
 26. Torrente, M.C.; Rodrigo, J.P.; Haigentz, M.J.; Dikkers, F.G.; Rinaldo, A.; Takes, R.P.; Olofsson, J.; Ferlito, A. Human Papillomavirus Infections in Laryngeal Cancer. *Head Neck* **2011**, *33*, 581–586, doi:10.1002/hed.21421.
 27. Baumann, J.L.; Cohen, S.; Evjen, A.N.; Law, J.H.; Vadivelu, S.; Attia, A.; Schindler, J.S.; Chung, C.H.; Wirth, P.S.; Meijer, C.J.L.M.; et al. Human Papillomavirus in Early Laryngeal Carcinoma. *Laryngoscope* **2009**, *119*, 1531–1537, doi:10.1002/lary.20509.
 28. Laco, J.; Nekvindova, J.; Novakova, V.; Celakovsky, P.; Dolezalova, H.; Tucek, L.; Vosmikova, H.; Vosmik, M.; Neskudlova, T.; Cermakova, E.; et al. Biologic Importance and Prognostic Significance of Selected Clinicopathological Parameters in Patients with Oral and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma, with Emphasis on Smoking, Protein P16(INK4a) Expression, and HPV Status. *Neoplasma* **2012**, *59*, 398–408, doi:10.4149/neo_2012_052.
 29. Laco, J.; Slaninka, I.; Jirásek, M.; Celakovský, P.; Vosmiková, H.; Ryska, A. High-Risk Human Papillomavirus Infection and P16INK4a Protein Expression in Laryngeal Lesions. *Pathol. Res. Pract.* **2008**, *204*, 545–552, doi:10.1016/j.prp.2008.03.001.
 30. Tachezy, R.; Klozar, J.; Saláková, M.; Smith, E.; Turek, L.; Betka, J.; Kodet, R.; Hamsíková, E. HPV and Other Risk Factors of Oral Cavity/Oropharyngeal Cancer in the Czech Republic. *Oral Dis.* **2005**, *11*, 181–185, doi:10.1111/j.1601-0825.2005.01112.x.
 31. Rotnáglová, E.; Tachezy, R.; Saláková, M.; Procházka, B.; Košl'abová, E.; Veselá, E.; Ludvíková, V.; Hamšíková, E.; Klozar, J. HPV Involvement in Tonsillar Cancer: Prognostic Significance and Clinically Relevant Markers. *Int. J. cancer* **2011**, *129*, 101–110, doi:10.1002/ijc.25889.
 32. Kreimer, A.R.; Clifford, G.M.; Boyle, P.; Franceschi, S. Human Papillomavirus Types in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas Worldwide: A Systematic Review. *Cancer Epidemiol. biomarkers Prev. a Publ. Am. Assoc. Cancer Res. cosponsored by Am. Soc. Prev. Oncol.* **2005**, *14*, 467–475, doi:10.1158/1055-9965.EPI-04-0551.
 33. Klozar, J.; Kratochvil, V.; Salakova, M.; Smahelova, J.; Vesela, E.; Hamsikova, E.; Betka, J.; Tachezy, R. HPV Status and Regional Metastasis in the Prognosis of Oral and Oropharyngeal Cancer. *Eur. Arch. oto-rhino-laryngology Off. J. Eur. Fed. Oto-Rhino-Laryngological Soc. Affil. with Ger. Soc. Oto-Rhino-Laryngology - Head Neck Surg.* **2008**, *265 Suppl*, S75-82, doi:10.1007/s00405-007-0557-9.
 34. Isayeva, T.; Li, Y.; Maswahu, D.; Brandwein-Gensler, M. Human Papillomavirus in Non-Oropharyngeal Head and Neck Cancers: A Systematic Literature Review. *Head Neck Pathol.* **2012**, *6 Suppl 1*, S104-20, doi:10.1007/s12105-012-0368-1.
 35. Hernandez, B.Y.; Goodman, M.T.; Lynch, C.F.; Cozen, W.; Unger, E.R.; Steinau, M.; Thompson, T.; Saber, M.S.; Altekruse, S.F.; Lyu, C.; et al. Human Papillomavirus

- Prevalence in Invasive Laryngeal Cancer in the United States. *PLoS One* **2014**, *9*, e115931, doi:10.1371/journal.pone.0115931.
36. Chung, C.H.; Zhang, Q.; Kong, C.S.; Harris, J.; Fertig, E.J.; Harari, P.M.; Wang, D.; Redmond, K.P.; Shenouda, G.; Trotti, A.; et al. P16 Protein Expression and Human Papillomavirus Status as Prognostic Biomarkers of Nonoropharyngeal Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **2014**, *32*, 3930–3938, doi:10.1200/JCO.2013.54.5228.
 37. Haddad, R.; Crum, C.; Chen, Z.; Krane, J.; Posner, M.; Li, Y.; Burk, R. HPV16 Transmission between a Couple with HPV-Related Head and Neck Cancer. *Oral Oncol.* **2008**, *44*, 812–815, doi:10.1016/j.oraloncology.2007.09.004.
 38. Rintala, M.; Grénman, S.; Puranen, M.; Syrjänen, S. Natural History of Oral Papillomavirus Infections in Spouses: A Prospective Finnish HPV Family Study. *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.* **2006**, *35*, 89–94, doi:10.1016/j.jcv.2005.05.012.
 39. Farooq, I.; Bugshan, A. Oral Squamous Cell Carcinoma: Metastasis, Potentially Associated Malignant Disorders, Etiology and Recent Advancements in Diagnosis. *F1000Research* **2020**, *9*, doi:10.12688/F1000RESEARCH.22941.1/DOI.
 40. Mittal, S.S.; Mohod, S.; Lohe, V.; Patel, S.; Khubchandani, M.; Kukde, M.M. Role of Betel Nut in Liver Toxicity in Oral Submucous Fibrosis and Oral Cancer Patients: A Case-Control Study. *Cureus* **2023**, *15*, e48562, doi:10.7759/cureus.48562.
 41. Speight, P.M.; Khurram, S.A.; Kujan, O. Oral Potentially Malignant Disorders: Risk of Progression to Malignancy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* **2018**, *125*, 612–627, doi:10.1016/J.OOOO.2017.12.011.
 42. Clayman, L. Oral Cancer Detection: The Essential Role of the Dental Profession. *J. Mich. Dent. Assoc.* **2004**, *86*, 28-34,78.
 43. Holmstrup, P.; Vedtofte, P.; Reibel, J.; Stoltze, K. Long-Term Treatment Outcome of Oral Premalignant Lesions. *Oral Oncol.* **2006**, *42*, 461–474, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2005.08.011.
 44. Napier, S.S.; Speight, P.M. Natural History of Potentially Malignant Oral Lesions and Conditions: An Overview of the Literature. *J. Oral Pathol. Med.* **2008**, *37*, 1–10, doi:10.1111/J.1600-0714.2007.00579.X.
 45. Mello, F.W.; Miguel, A.F.P.; Dutra, K.L.; Porporatti, A.L.; Warnakulasuriya, S.; Guerra, E.N.S.; Rivero, E.R.C. Prevalence of Oral Potentially Malignant Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Oral Pathol. Med.* **2018**, *47*, 633–640, doi:10.1111/JOP.12726.
 46. Lee, C.H.; Ko, A.M.S.; Yen, C.F.; Chu, K.S.; Gao, Y.J.; Warnakulasuriya, S.; Sunarjo; Ibrahim, S.O.; Zain, R.B.; Patrick, W.K.; et al. Betel-Quid Dependence and Oral Potentially Malignant Disorders in Six Asian Countries. *Br. J. Psychiatry* **2012**, *201*, 383–391, doi:10.1192/BJP.BP.111.107961.
 47. Lee, C.-H.; Min-Shan Ko, A.; Warnakulasuriya, S.; Ling, T.-Y.; Sunarjo; Rajapakse, P.S.; Zain, R.B.; Ibrahim, S.O.; Zhang, S.-S.; Wu, H.-J.; et al. Population Burden of Betel Quid Abuse and Its Relation to Oral Premalignant Disorders in South,

- Southeast, and East Asia: An Asian Betel-Quid Consortium Study. *Am. J. Public Health* **2012**, *102*, e17–e24, doi:10.2105/AJPH.2011.300521.
48. Iocca, O.; Sollecito, T.P.; Alawi, F.; Weinstein, G.S.; Newman, J.G.; De Virgilio, A.; Di Maio, P.; Spriano, G.; Pardiñas López, S.; Shanti, R.M. Potentially Malignant Disorders of the Oral Cavity and Oral Dysplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis of Malignant Transformation Rate by Subtype. *Head Neck* **2020**, *42*, 539–555, doi:10.1002/HED.26006.
 49. Alaizari, N.A.; Sperandio, M.; Odell, E.W.; Peruzzo, D.; Al-Maweri, S.A. Meta-Analysis of the Predictive Value of DNA Aneuploidy in Malignant Transformation of Oral Potentially Malignant Disorders. *J. Oral Pathol. Med.* **2018**, *47*, 97–103, doi:10.1111/JOP.12603.
 50. Mehanna, H.M.; Rattay, T.; Smith, J.; McConkey, C.C. Treatment and Follow-up of Oral Dysplasia — A Systematic Review and Meta-Analysis. *Head Neck* **2009**, *31*, 1600–1609, doi:10.1002/HED.21131.
 51. Warnakulasuriya, S.; Johnson, N.W.; Van Der Waal, I. Nomenclature and Classification of Potentially Malignant Disorders of the Oral Mucosa. *J. Oral Pathol. Med.* **2007**, *36*, 575–580, doi:10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x.
 52. Liu, W.; Zhang, Y.; Wu, L.; Yang, X.; Shi, L. Characteristics and Trends of Oral Leukoplakia Research: A Bibliometric Study of the 100 Most Cited Articles. *Medicine (Baltimore)*. **2019**, *98*, doi:10.1097/MD.00000000000016293.
 53. van Harten, A.M.; Brakenhoff, R.H. Targeted Treatment of Head and Neck (Pre)Cancer: Preclinical Target Identification and Development of Novel Therapeutic Applications. *Cancers (Basel)*. **2021**, *13*, doi:10.3390/CANCERS13112774.
 54. Ranganathan, K.; Kavitha, L. Oral Epithelial Dysplasia: Classifications and Clinical Relevance in Risk Assessment of Oral Potentially Malignant Disorders. *J. Oral Maxillofac. Pathol.* **2019**, *23*, 19–27, doi:10.4103/JOMFP.JOMFP_13_19.
 55. Wetzel, S.L.; Wollenberg, J. Oral Potentially Malignant Disorders. *Dent. Clin. North Am.* **2020**, *64*, 25–37, doi:10.1016/J.CDEN.2019.08.004.
 56. Cabay, R.J.; Morton, T.H.; Epstein, J.B. Proliferative Verrucous Leukoplakia and Its Progression to Oral Carcinoma: A Review of the Literature. *J. Oral Pathol. Med.* **2007**, *36*, 255–261, doi:10.1111/J.1600-0714.2007.00506.X.
 57. Hansen, L.S.; Olson, J.A.; Silverman, S. Proliferative Verrucous Leukoplakia. A Long-Term Study of Thirty Patients. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* **1985**, *60*, 285–298, doi:10.1016/0030-4220(85)90313-5.
 58. Carrard, V.C.; Brouns, E.R.E.A.; van der Waal, I. Proliferative Verrucous Leukoplakia; a Critical Appraisal of the Diagnostic Criteria. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* **2013**, *18*, doi:10.4317/MEDORAL.18912.
 59. Batsakis, J.G.; Suarez, P.; El-Naggar, A.K. Proliferative Verrucous Leukoplakia and Its Related Lesions. *Oral Oncol.* **1999**, *35*, 354–359, doi:10.1016/S1368-8375(99)00007-X.
 60. Villa, A.; Menon, R.S.; Kerr, A.R.; De Abreu Alves, F.; Guollo, A.; Ojeda, D.; Woo, S.B. Proliferative Leukoplakia: Proposed New Clinical Diagnostic Criteria. *Oral Dis.*

2018, 24, 749–760, doi:10.1111/ODI.12830.

61. Garcia-Pola, M.J.; Llorente-Pendás, S.; González-García, M.; García-Martín, J.M. The Development of Proliferative Verrucous Leukoplakia in Oral Lichen Planus. A Preliminary Study. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* **2016**, 21, e328–e334, doi:10.4317/MEDORAL.20832.
62. Cerero-Lapiedra, R.; Baladé-Martínez, D.; Moreno-López, L.; Esparza-Gómez, G.; Bagan, J. Proliferative Verrucous Leukoplakia: A Proposal for Diagnostic Criteria. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* **2010**, 15, e839-45, doi:10.4317/medoral.15.e839.
63. Bagan, J.; Murillo-Cortes, J.; Poveda-Roda, R.; Leopoldo-Rodado, M.; Bagan, L. Second Primary Tumors in Proliferative Verrucous Leukoplakia: A Series of 33 Cases. *Clin. Oral Investig.* **2020**, 24, 1963–1969, doi:10.1007/S00784-019-03059-9.
64. Warnakulasuriya, S. White, Red, and Mixed Lesions of Oral Mucosa: A Clinicopathologic Approach to Diagnosis. *Periodontol. 2000* **2019**, 80, 89–104, doi:10.1111/PRD.12276.
65. Waal, I. van der; Scully, C. Oral Cancer: Comprehending the Condition, Causes, Controversies, Control and Consequences. 4. Potentially Malignant Disorders of the Oral and Oropharyngeal Mucosa. *Dent. Update* **2011**, 38, 138–140, doi:10.12968/DENU.2011.38.2.138.
66. Reichart, P.A.; Philipsen, H.P. Oral Erythroplakia--a Review. *Oral Oncol.* **2005**, 41, 551–561, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2004.12.003.
67. Misra, S.P. Oesophageal Subepithelial Fibrosis: An Extension of Oral Submucosal Fibrosis. *Postgrad. Med. J.* **1998**, 74, 733–736, doi:10.1136/pgmj.74.878.733.
68. Tilakaratne, W.M.; Ekanayaka, R.P.; Warnakulasuriya, S. Oral Submucous Fibrosis: A Historical Perspective and a Review on Etiology and Pathogenesis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* **2016**, 122, 178–191, doi:10.1016/J.OOOO.2016.04.003.
69. Shilpa, B.J.; Ashok, L.; Veerendra Swamy, S.M. Esophageal Changes in Oral Submucous Fibrosis Using Fiber-Optic Endoscopy. *J. Investig. Clin. Dent.* **2011**, 2, 10–15, doi:10.1111/j.2041-1626.2010.00037.x.
70. Kerr, A.; Warnakulasuriya, S.; Mighell, A.; Dietrich, T.; Nasser, M.; Rimal, J.; Jalil, A.; Bornstein, M.; Nagao, T.; Fortune, F.; et al. A Systematic Review of Medical Interventions for Oral Submucous Fibrosis and Future Research Opportunities. *Oral Dis.* **2011**, 17, 42–57, doi:10.1111/j.1601-0825.2011.01791.x.
71. Ray, J.G.; Chatterjee, R.; Chaudhuri, K. Oral Submucous Fibrosis: A Global Challenge. Rising Incidence, Risk Factors, Management, and Research Priorities. *Periodontol. 2000* **2019**, 80, 200–212, doi:10.1111/PRD.12277.
72. Tilakaratne, W.M.; Klinikowski, M.F.; Saku, T.; Peters, T.J.; Warnakulasuriya, S. Oral Submucous Fibrosis: Review on Aetiology and Pathogenesis. *Oral Oncol.* **2006**, 42, 561–568, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2005.08.005.
73. Teh, M.T.; Tilakaratne, W.M.; Chaplin, T.; Young, B.D.; Ariyawardana, A.; Pitiyage, G.; Lalli, A.; Stewart, J.E.; Hagi-Pavli, E.; Cruchley, A.; et al. Fingerprinting Genomic Instability in Oral Submucous Fibrosis. *J. Oral Pathol. Med.* **2008**, 37, 430–

436, doi:10.1111/J.1600-0714.2008.00643.X.

74. Wang, Y.P.; Wu, Y.C.; Cheng, S.J.; Chen, H.M.; Sun, A.; Chang, J.Y.F. High Frequencies of Vitamin B12 and Folic Acid Deficiencies and Gastric Parietal Cell Antibody Positivity in Oral Submucous Fibrosis Patients. *J. Formos. Med. Assoc.* **2015**, *114*, 813–819, doi:10.1016/J.JFMA.2015.05.011.
75. Guruprasad, R.; Jain, A.; Nair, P.; Singh, M.; Singh, M.; Singh, M. Serum Vitamin c and Iron Levels in Oral Submucous Fibrosis. *Indian J. Dent.* **2014**, *5*, 81, doi:10.4103/0975-962X.135266.
76. Arakeri, G.; Rai, K.K.; Hunasgi, S.; Merkkx, M.A.W.; Gao, S.; Brennan, P.A. Oral Submucous Fibrosis: An Update on Current Theories of Pathogenesis. *J. Oral Pathol. Med.* **2017**, *46*, 406–412, doi:10.1111/JOP.12581.
77. Balakrishnan, C.; Aswath, N. Estimation of Serum, Salivary Immunoglobulin G, Immunoglobulin A Levels and Total Protein, Hemoglobin in Smokeless Tobacco Chewers and Oral Submucous Fibrosis Patients. *Contemp. Clin. Dent.* **2015**, *6*, S157–S162, doi:10.4103/0976-237X.166820.
78. Carrozzo, M.; Porter, S.; Mercadante, V.; Fedele, S. Oral Lichen Planus: A Disease or a Spectrum of Tissue Reactions? Types, Causes, Diagnostic Algorithms, Prognosis, Management Strategies. *Periodontol. 2000* **2019**, *80*, 105–125, doi:10.1111/PRD.12260.
79. Aghbari, S.M.H.; Abushouk, A.I.; Attia, A.; Elmaraezy, A.; Menshawy, A.; Ahmed, M.S.; Elsaadany, B.A.; Ahmed, E.M. Malignant Transformation of Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions: A Meta-Analysis of 20095 Patient Data. *Oral Oncol.* **2017**, *68*, 92–102, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2017.03.012.
80. Cheng, Y.S.L.; Gould, A.; Kurago, Z.; Fantasia, J.; Muller, S. Diagnosis of Oral Lichen Planus: A Position Paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* **2016**, *122*, 332–354, doi:10.1016/J.OOOO.2016.05.004.
81. Van Der Meij, E.H.; Schepman, K.P.; Smeele, L.E.; Van Der Wal, J.E.; Bezemer, P.D.; Van Der Waal, I. A Review of the Recent Literature Regarding Malignant Transformation of Oral Lichen Planus. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* **1999**, *88*, 307–310, doi:10.1016/S1079-2104(99)70033-8.
82. Krutchkoff, D.J.; Cutler, L.; Laskowski, S. Oral Lichen Planus: The Evidence Regarding Potential Malignant Transformation. *J. Oral Pathol.* **1978**, *7*, 1–7, doi:10.1111/J.1600-0714.1978.TB01879.X.
83. Roopashree, M.R.; Gondhalekar, R. V.; Shashikanth, M.C.; George, J.; Thippeswamy, S.H.; Shukla, A. Pathogenesis of Oral Lichen Planus--a Review. *J. Oral Pathol. Med.* **2010**, *39*, 729–734, doi:10.1111/J.1600-0714.2010.00946.X.
84. González-Moles, M.Á.; Ruiz-Ávila, I.; González-Ruiz, L.; Ayén, Á.; Gil-Montoya, J.A.; Ramos-García, P. Malignant Transformation Risk of Oral Lichen Planus: A Systematic Review and Comprehensive Meta-Analysis. *Oral Oncol.* **2019**, *96*, 121–130, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2019.07.012.
85. Al-Hashimi, I.; Schifter, M.; Lockhart, P.B.; Wray, D.; Brennan, M.; Migliorati, C.A.;

- Axéll, T.; Bruce, A.J.; Carpenter, W.; Eisenberg, E.; et al. Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions: Diagnostic and Therapeutic Considerations. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* **2007**, *103 Suppl*, S25.e1-S25.e12, doi:10.1016/J.TRIPLEO.2006.11.001.
86. Van der Meij, E.H.; Van der Waal, I. Lack of Clinicopathologic Correlation in the Diagnosis of Oral Lichen Planus Based on the Presently Available Diagnostic Criteria and Suggestions for Modifications. *J. Oral Pathol. Med.* **2003**, *32*, 507–512, doi:10.1034/J.1600-0714.2003.00125.X.
 87. Scully, C.; Bagan, J. V. Adverse Drug Reactions in the Orofacial Region. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **2004**, *15*, 221–239, doi:10.1177/154411130401500405.
 88. Carrozzo, M.; Porter, S.; Mercadante, V.; Fedele, S. Oral Lichen Planus: A Disease or a Spectrum of Tissue Reactions? Types, Causes, Diagnostic Algorithms, Prognosis, Management Strategies. *Periodontol. 2000* **2019**, *80*, 105–125, doi:10.1111/PRD.12260.
 89. Aguirre-Urizar, J.M.; Alberdi-Navarro, J.; de Mendoza, I.L.I.; Maricha-Lar-mendia, X.; Martínez-Revilla, B.; Parra-Pérez, C.; De Juan-Galíndez, A.; Eche-Barriagoicouria, M.Á. Clinicopathological and Prognostic Characterization of Oral Lichenoid Disease and Its Main Subtypes: A Series of 384 Cases. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* **2020**, *25*, e554–e562, doi:10.4317/MEDORAL.23576.
 90. Markopoulos, A.; Albanidou-Farmaki, E.; Kayavis, I. Actinic Cheilitis: Clinical and Pathologic Characteristics in 65 Cases. *Oral Dis.* **2004**, *10*, 212–216, doi:10.1111/J.1601-0825.2004.01004.X.
 91. Savage, N.W.; McKay, C.; Faulkner, C. Actinic Cheilitis in Dental Practice. *Aust. Dent. J.* **2010**, *55 Suppl 1*, 78–84, doi:10.1111/J.1834-7819.2010.01202.X.
 92. Fernandez Figueras, M.T. From Actinic Keratosis to Squamous Cell Carcinoma: Pathophysiology Revisited. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **2017**, *31 Suppl 2*, 5–7, doi:10.1111/JDV.14151.
 93. Mello, F.W.; Melo, G.; Modolo, F.; Rivero, E.R.C. Actinic Cheilitis and Lip Squamous Cell Carcinoma: Literature Review and New Data from Brazil. *J. Clin. Exp. Dent.* **2019**, *11*, e62–e69, doi:10.4317/JCED.55133.
 94. Cavalcante, A.S.R.; Anbinder, A.L.; Carvalho, Y.R. Actinic Cheilitis: Clinical and Histological Features. *J. Oral Maxillofac. Surg.* **2008**, *66*, 498–503, doi:10.1016/J.JOMS.2006.09.016.
 95. de Santana Sarmiento, D.J.; da Costa Miguel, M.C.; Queiroz, L.M.G.; Godoy, G.P.; Da Silveira, É.J.D. Actinic Cheilitis: Clinicopathologic Profile and Association with Degree of Dysplasia. *Int. J. Dermatol.* **2014**, *53*, 466–472, doi:10.1111/IJD.12332.
 96. Werner, R.N.; Sammain, A.; Erdmann, R.; Hartmann, V.; Stockfleth, E.; Nast, A. The Natural History of Actinic Keratosis: A Systematic Review. *Br. J. Dermatol.* **2013**, *169*, 502–518, doi:10.1111/BJD.12420.
 97. Sreenivasa Bharath, T.; Govind Raj Kumar, N.; Nagaraja, A.; Saraswathi, T.R.; Suresh Babu, G.; Ramanjaneya Raju, P. Palatal Changes of Reverse Smokers in a Rural Coastal Andhra Population with Review of Literature. *J. Oral Maxillofac.*

- Pathol.* **2015**, *19*, 182–187, doi:10.4103/0973-029X.164530.
98. Ogden, G.R.; Connor, E.; Chisholm, D.M. Dyskeratosis Congenita: Report of a Case and Review of the Literature. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* **1988**, *65*, 586–591, doi:10.1016/0030-4220(88)90142-9.
 99. Arvanitidou, I.E.; Nikitakis, N.G.; Georgaki, M.; Papadogeorgakis, N.; Tzioufas, A.; Sklavounou, A. Multiple Primary Squamous Cell Carcinomas of the Lower Lip and Tongue Arising in Discoid Lupus Erythematosus: A Case Report. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* **2018**, *125*, e22–e30, doi:10.1016/J.OOOO.2017.08.012.
 100. Abdel-Karim, A.; Frezzini, C.; Viggor, S.; Davidson, L.E.; Thornhill, M.H.; Yeoman, C.M. Dyskeratosis Congenita: A Case Report. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* **2009**, *108*, e20-4, doi:10.1016/j.tripleo.2009.03.042.
 101. Ballew, B.J.; Savage, S.A. Updates on the Biology and Management of Dyskeratosis Congenita and Related Telomere Biology Disorders. *Expert Rev. Hematol.* **2013**, *6*, 327–337, doi:10.1586/ehm.13.23.
 102. Handley, T.P.B.; Ogden, G.R. Dyskeratosis Congenita: Oral Hyperkeratosis in Association with Lichenoid Reaction. *J. oral Pathol. Med. Off. Publ. Int. Assoc. Oral Pathol. Am. Acad. Oral Pathol.* **2006**, *35*, 508–512, doi:10.1111/j.1600-0714.2006.00434.x.
 103. Bongiorno, M.; Rivard, S.; Hammer, D.; Kentosh, J. Malignant Transformation of Oral Leukoplakia in a Patient with Dyskeratosis Congenita. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* **2017**, *124*, e239–e242, doi:10.1016/j.oooo.2017.08.001.
 104. McKay, G.S.; Ogden, G.R.; Chisholm, D.M. Lingual Hyperkeratosis in Dyskeratosis Congenita: Ultrastructural Findings. *J. oral Pathol. Med. Off. Publ. Int. Assoc. Oral Pathol. Am. Acad. Oral Pathol.* **1991**, *20*, 196–199, doi:10.1111/j.1600-0714.1991.tb00921.x.
 105. Ogden, G.R.; Lane, E.B.; Hopwood, D. V; Chisholm, D.M. Evidence for Field Change in Oral Cancer Based on Cytokeratin Expression. *Br. J. Cancer* **1993** *67* 676 **1993**, *67*, 1324–1330, doi:10.1038/bjc.1993.245.
 106. van der Meij, E.H.; Mast, H.; van der Waal, I. The Possible Premalignant Character of Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions: A Prospective Five-Year Follow-up Study of 192 Patients. *Oral Oncol.* **2007**, *43*, 742–748, doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2006.09.006.
 107. Mcparland, H.; Warnakulasuriya, S. Oral Lichenoid Contact Lesions to Mercury and Dental Amalgam—A Review. *J. Biomed. Biotechnol.* **2012**, doi:10.1155/2012.
 108. Warnakulasuriya, S.; Kujan, O.; Aguirre-Urizar, J.M.; Bagan, J. V.; González-Moles, M.Á.; Kerr, A.R.; Lodi, G.; Mello, F.W.; Monteiro, L.; Ogden, G.R.; et al. *Oral Potentially Malignant Disorders: A Consensus Report from an International Seminar on Nomenclature and Classification, Convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer*; 2021; Vol. 27; ISBN 0000000221.
 109. Elad, S.; Zadik, Y.; Caton, J.G.; Epstein, J.B. Oral Mucosal Changes Associated with Primary Diseases in Other Body Systems. *Periodontol. 2000* **2019**, *80*, 28–48,

doi:10.1111/PRD.12265.

110. Fricain, J.-C.; Sibaud, V.; Hafian, H.; Deminière, C.; Taiëb, A.; Boiron, J.-M. Les Manifestations Buccales de La Réaction Du Greffon Contre l'hôte. *Ann. Dermatol. Venereol.* **2005**, *132*, 1017–1025, doi:https://doi.org/10.1016/S0151-9638(05)79574-0.
111. Schubert, M.M.; Sullivan, K.M.; Morton, T.H.; Izutsu, K.T.; Peterson, D.E.; Flournoy, N.; Truelove, E.L.; Sale, G.E.; Buckner, C.D.; Storb, R.; et al. Oral Manifestations of Chronic Graft-v-Host Disease. *Arch. Intern. Med.* **1984**, *144*, 1591–1595, doi:10.1001/archinte.1984.00350200087014.
112. Atsuta, Y.; Suzuki, R.; Yamashita, T.; Fukuda, T.; Miyamura, K.; Taniguchi, S.; Iida, H.; Uchida, T.; Ikegame, K.; Takahashi, S.; et al. Continuing Increased Risk of Oral/Esophageal Cancer after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Adults in Association with Chronic Graft-versus-Host Disease. *Ann. Oncol.* **2014**, *25*, 435–441, doi:https://doi.org/10.1093/annonc/mdt558.
113. Mawardi, H.; Elad, S.; Correa, M.E.; Stevenson, K.; Woo, S.-B.; Almazrooa, S.; Haddad, R.; Antin, J.H.; Soiffer, R.; Treister, N. Oral Epithelial Dysplasia and Squamous Cell Carcinoma Following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Clinical Presentation and Treatment Outcomes. *Bone Marrow Transplant.* **2011**, *46*, 884–891, doi:10.1038/bmt.2011.77.
114. Hashimoto, K.; Nagao, T.; Koie, S.; Miyabe, S.; Saito, T. Secondary Squamous Cell Carcinoma of the Tongue Complicated with Bronchiolitis Obliterans as a Manifestation of Graft-versus-Host Disease Following Peripheral Blood Stem Cell Transplantation. *Case Rep. Hematol.* **2019**, *2019*, 1–4, doi:10.1155/2019/6015803.
115. Frydrych, A.M.; Kujan, O.; Farah, C.S. Chronic Disease Comorbidity in Patients with Oral Leukoplakia. *Oral Cancer 2019 31* **2019**, *3*, 17–26, doi:10.1007/S41548-018-0015-Y.
116. Demarosi, F.; Soligo, D.; Lodi, G.; Moneghini, L.; Sardella, A.; Carrassi, A. Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity Associated with Graft versus Host Disease: Report of a Case and Review of the Literature. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* **2005**, *100*, 63–69, doi:10.1016/j.tripleo.2004.12.008.
117. Warnakulasuriya, S.; Kujan, O.; Aguirre-Urizar, J.M.; Bagan, J. V.; González-Moles, M.Á.; Kerr, A.R.; Lodi, G.; Mello, F.W.; Monteiro, L.; Ogden, G.R.; et al. Oral Potentially Malignant Disorders: A Consensus Report from an International Seminar on Nomenclature and Classification, Convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis.* **2021**, *27*, 1862–1880, doi:10.1111/odi.13704.
118. Farah, C.S.; Kujan, O.; Prime, S.; Zain, R.B. Oral Mucosal Malignancies. *Contemp. Oral Med.* **2019**, 1249–1436, doi:10.1007/978-3-319-72303-7_21/COVER.
119. Dilhari, A.; Weerasekera, M.M.; Siriwardhana, A.; Maheshika, O.; Gunasekara, C.; Karunathilaka, S.; Nagahawatte, A.; Fernando, N. Candida Infection in Oral Leukoplakia: An Unperceived Public Health Problem. *Acta Odontol. Scand.* **2016**, *74*, 565–569, doi:10.1080/00016357.2016.1220018.
120. McCullough, M.; Jaber, M.; Barrett, A.W.; Bain, L.; Speight, P.M.; Porter, S.R. Oral

- Yeast Carriage Correlates with Presence of Oral Epithelial Dysplasia. *Oral Oncol.* **2002**, *38*, 391–393, doi:10.1016/S1368-8375(01)00079-3.
121. Rast, T.J.; Kullas, A.L.; Southern, P.J.; Davis, D.A. Human Epithelial Cells Discriminate between Commensal and Pathogenic Interactions with *Candida Albicans*. *PLoS One* **2016**, *11*, e0153165, doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0153165.
 122. Sitheequ, M.A.M.; Samaranayake, L.P. Chronic Hyperplastic Candidosis/Candidiasis (Candidal Leukoplakia). *Crit. Rev. oral Biol. Med. an Off. Publ. Am. Assoc. Oral Biol.* **2003**, *14*, 253–267, doi:10.1177/154411130301400403.
 123. Shukla, K.; Vun, I.; Lov, I.; Laparidis, G.; McCamley, C.; Ariyawardana, A. Role of *Candida* Infection in the Malignant Transformation of Oral Leukoplakia: A Systematic Review of Observational Studies. *Transl. Res. Oral Oncol.* **2019**, *4*, 2057178X1982822, doi:10.1177/2057178X19828229.
 124. Ho, J.; Yang, X.; Nikou, S.A.; Kichik, N.; Donkin, A.; Ponde, N.O.; Richardson, J.P.; Gratacap, R.L.; Archambault, L.S.; Zwirner, C.P.; et al. Candidalysin Activates Innate Epithelial Immune Responses via Epidermal Growth Factor Receptor. *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 1–12, doi:10.1038/s41467-019-09915-2.
 125. Alnuaimi, A.D.; Ramdzan, A.N.; Wiesenfeld, D.; O'Brien-Simpson, N.M.; Kolev, S.D.; Reynolds, E.C.; McCullough, M.J. *Candida* Virulence and Ethanol-Derived Acetaldehyde Production in Oral Cancer and Non-Cancer Subjects. *Oral Dis.* **2016**, *22*, 805–814, doi:10.1111/odi.12565.
 126. Shear, M.; Pindborg, J.J. Verrucous Hyperplasia of the Oral Mucosa. *Cancer* **1980**, *46*, 1855–1862, doi:10.1002/1097-0142(19801015)46:8<1855::aid-cncr2820460825>3.0.co;2-#.
 127. Zain, R.B.; Kallarakkal, T.G.; Ramanathan, A.; Kim, J.; Tilakaratne, W.M.; Takata, T.; Warnakulasuriya, S.; Hazarey, V.K.; Rich, A.; Hussaini, H.M.; et al. Exophytic Verrucous Hyperplasia of the Oral Cavity – Application of Standardized Criteria for Diagnosis from a Consensus Report. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* **2016**, *17*, 4491, doi:10.7314/APJCP.2016.17.(9).4491.
 128. Patil, S.; Warnakulasuriya, S.; Raj, T.; Sanketh, D.S.; Rao, R.S. Exophytic Oral Verrucous Hyperplasia: A New Entity. *J. Investig. Clin. Dent.* **2016**, *7*, 417–423, doi:10.1111/JICD.12166.
 129. Shah, A.M.; Bansal, S.; Shirsat, P.M.; Prasad, P.; Desai, R.S. Exophytic Verrucous Hyperplasia in Oral Submucous Fibrosis: A Single-Center Study. *J Oral Maxillofac Pathol.* **2019**, *23*, 393–399, doi:10.4103/jomfp.JOMFP_276_19.
 130. Nikitakis, N.G.; Pentenero, M.; Georgaki, M.; Poh, C.F.; Peterson, D.E.; Edwards, P.; Lingen, M.; Sauk, J.J. Molecular Markers Associated with Development and Progression of Potentially Premalignant Oral Epithelial Lesions: Current Knowledge and Future Implications. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* **2018**, *125*, 650–669, doi:10.1016/J.OOOO.2018.03.012.
 131. Slaughter, D.P.; Southwick, H.W.; Smejkal, W. Field Cancerization in Oral Stratified Squamous Epithelium; Clinical Implications of Multicentric Origin. *Cancer* **1953**, *6*, 963–968, doi:10.1002/1097-0142(195309)6:5<963::aid-cncr2820060515>3.0.co;2-q.

132. Braakhuis, B.J.M.; 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.* **2003**, *63*, 1727–1730.
133. Braakhuis, B.J.M.; Leemans, C.R.; Brakenhoff, R.H. Expanding Fields of Genetically Altered Cells in Head and Neck Squamous Carcinogenesis. *Semin. Cancer Biol.* **2005**, *15*, 113–120, doi:<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2004.08.004>.
134. Rashid, A.; Warnakulasuriya, S. The Use of Light-Based (Optical) Detection Systems as Adjuncts in the Detection of Oral Cancer and Oral Potentially Malignant Disorders: A Systematic Review. *J. Oral Pathol. Med.* **2015**, *44*, 307–328, doi:10.1111/JOP.12218.
135. Lingen, M.W.; Tampi, M.P.; Urquhart, O.; Abt, E.; Agrawal, N.; Chaturvedi, A.K.; Cohen, E.; D'Souza, G.; Gurenlian, J.; Kalmar, J.R.; et al. Adjuncts for the Evaluation of Potentially Malignant Disorders in the Oral Cavity: Diagnostic Test Accuracy Systematic Review and Meta-Analysis—a Report of the American Dental Association. *J. Am. Dent. Assoc.* **2017**, *148*, 797-813.e52, doi:10.1016/j.adaj.2017.08.045.
136. Ogden, G.R. Potential Early Markers of Carcinogenesis in the Mucosa of the Head and Neck Using Exfoliative Cytology. *J. Pathol.* 1997, *181*, 347–348.
137. El-Gazzar, R.; Macluskey, M.; Ogden, G.R. Evidence for a Field Change Effect Based on Angiogenesis in the Oral Mucosa? A Brief Report. *Oral Oncol.* **2005**, *41*, 25–30, doi:10.1016/j.oraloncology.2004.06.008.
138. Kutler, D.I.; Auerbach, A.D.; Satagopan, J.; Giampietro, P.F.; Batish, S.D.; Huvos, A.G.; Goberdhan, A.; Shah, J.P.; Singh, B. High Incidence of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in Patients With Fanconi Anemia. *Arch. Otolaryngol. Neck Surg.* **2003**, *129*, 106–112, doi:10.1001/archotol.129.1.106.
139. Prime, S.S.; Thakker, N.S.; Pring, M.; Guest, P.G.; Paterson, I.C. A Review of Inherited Cancer Syndromes and Their Relevance to Oral Squamous Cell Carcinoma. *Oral Oncol.* **2001**, *37*, 1–16, doi:[https://doi.org/10.1016/S1368-8375\(00\)00055-5](https://doi.org/10.1016/S1368-8375(00)00055-5).
140. Krishna, A.; Singh, S.; Kumar, V.; Pal, U.S. Molecular Concept in Human Oral Cancer. *Natl. J. Maxillofac. Surg.* **2015**, *6*, 9, doi:10.4103/0975-5950.168235.
141. Chang, Y.J.; Chen, K.W.; Chen, L. Mitochondrial ROS1 Increases Mitochondrial Fission and Respiration in Oral Squamous Cancer Carcinoma. *Cancers (Basel)*. **2020**, *12*, 1–15, doi:10.3390/CANCERS12102845.
142. Murugan, A.K.; Munirajan, A.K.; Tsuchida, N. Ras Oncogenes in Oral Cancer: The Past 20 Years. *Oral Oncol.* **2012**, *48*, 383–392, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2011.12.006.
143. Pérez-Sayáns, M.; Suárez-Peñaranda, J.M.; Pilar, G.D.; Barros-Angueira, F.; Gándara-Rey, J.M.; García-García, A. What Real Influence Does the Proto-Oncogene c-Myc Have in OSCC Behavior? *Oral Oncol.* **2011**, *47*, 688–692, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2011.05.016.
144. Xu, H.Y.; Dai, Q.; Chen, Q.X.; Xiao, F.; Dai, Y.H. MiR-802 Inhibits the Malignant Biological Behavior of Oral Squamous Cell Carcinoma by Targeting Proto-Oncogene MET. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2020**, *24*, 4255–4262,

doi:10.26355/EURREV_202004_21005.

145. Pallavi, N.; K Nalabolu, G.; S Hiremath, S. Bcl-2 and c-Myc Expression in Oral Dysplasia and Oral Squamous Cell Carcinoma: An Immunohistochemical Study to Assess Tumor Progression. *J. Oral Maxillofac. Pathol.* **2018**, *22*, 325, doi:10.4103/JOMFP.JOMFP_197_18.
146. Wu, H.T.; Chen, W.T.; Chen, W.J.; Li, C.L.; Liu, J. Bioinformatics Analysis Reveals That ANXA1 and SPINK5 Are Novel Tumor Suppressor Genes in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma. *Transl. Cancer Res.* **2021**, *10*, 1761–1772, doi:10.21037/TCR-20-3382.
147. Olivier, M.; Hollstein, M.; Hainaut, P. TP53 Mutations in Human Cancers: Origins, Consequences, and Clinical Use. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2010**, *2*, doi:10.1101/CSHPERSPECT.A001008.
148. Dyson, N.J. RB1: A Prototype Tumor Suppressor and an Enigma. *Genes Dev.* **2016**, *30*, 1492–1502, doi:10.1101/GAD.282145.116.
149. Sushma, P.S.; Jamil, K.; Kumar, P.U.; Satyanarayana, U.; Ramakrishna, M.; Triveni, B. PTEN and P16 Genes as Epigenetic Biomarkers in Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC): A Study on South Indian Population. *Tumor Biol.* **2015**, *37*, 7625–7632, doi:10.1007/S13277-015-4648-8.
150. He, S.; Chakraborty, R.; Ranganathan, S. Proliferation and Apoptosis Pathways and Factors in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, doi:10.3390/IJMS23031562.
151. Odell, E.W. Aneuploidy and Loss of Heterozygosity as Risk Markers for Malignant Transformation in Oral Mucosa. **2021**, 1993–2007, doi:10.1111/odi.13797.
152. Pfitzer, P.; Pape, H.-D. Investigation of DNA-Content of Leukoplakia Cells of Oral Mucosa. *J. Maxillofac. Surg.* **1975**, *3*, 119–124, doi:https://doi.org/10.1016/S0301-0503(75)80028-2.
153. Högmo, A.; Lindskog, S.; Lindholm, J.; Kuylenstierna, R.; Auer, G.; Munck-Wikland, E. Preneoplastic Oral Lesions: The Clinical Value of Image Cytometry DNA Analysis, P53 and P21/WAF1 Expression. *Anticancer Res.* **1998**, *18*, 3645–3650.
154. Giménez, I.B.; Conti, C.J. Microspectrophotometric Determination of DNA in Oral Lesions. *J. Oral Surg.* **1977**, *35*, 465–468.
155. Doyle, J.L.; Manhold, J.H. Feulgen Microspectrophotometry of Oral Cancer and Leukoplakia. *J. Dent. Res.* **1975**, *54*, 1196–1199, doi:10.1177/00220345750540061601.
156. Castagnola, P.; Zoppoli, G.; Gandolfo, S.; Monticone, M.; Malacarne, D.; Cirmena, G.; Brown, D.; Aiello, C.; Maffei, M.; Marino, R.; et al. Genomic DNA Copy Number Aberrations, Histological Diagnosis, Oral Subsite and Aneuploidy in OPMDs/OSCCs. *PLoS One* **2015**, *10*, e0142294, doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0142294.
157. Handschel, J.; Öz, D.; Pomjanski, N.; Depprich, R.; Ommerborn, M.A.; Braunstein, S.; Kübler, N.R.; Meyer, U.; Böcking, A. Additional Use of DNA-Image Cytometry

- Improves the Assessment of Resection Margins. *J. Oral Pathol. Med.* **2007**, *36*, 472–475, doi:10.1111/J.1600-0714.2007.00564.X.
158. Pentenero, M.; Donadini, A.; di Nallo, E.; Maffei, M.; Marino, R.; Familiari, U.; Castagnola, P.; Gandolfo, S.; Giaretti, W. Field Effect in Oral Precancer as Assessed by DNA Flow Cytometry and Array-CGH. *J. Oral Pathol. Med.* **2012**, *41*, 119–123, doi:10.1111/J.1600-0714.2011.01085.X.
 159. Bremmer, J.F.; Braakhuis, B.J.M.; Brink, A.; Broeckaert, M.A.M.; Beliën, J.A.M.; Meijer, G.A.; Kuik, D.J.; Leemans, C.R.; Bloemena, E.; Waal, I. Van Der; et al. Comparative Evaluation of Genetic Assays to Identify Oral Pre-Cancerous Fields. *J. Oral Pathol. Med.* **2008**, *37*, 599–606, doi:10.1111/J.1600-0714.2008.00682.X.
 160. Barrera, J.E.; Ai, H.; Pan, Z.; Meyers, A.D.; Varella-Garcia, M. Malignancy Detection by Molecular Cytogenetics in Clinically Normal Mucosa Adjacent to Head and Neck Tumors. *Arch. Otolaryngol. Neck Surg.* **1998**, *124*, 847–851, doi:10.1001/archotol.124.8.847.
 161. Zaini, Z.M.; Neat, M.; Stokes, A.; Tavassoli, M.; Odell, E.W. DNA Aneuploidy and Tissue Architecture in Oral Potentially Malignant Disorders with Epithelial Dysplasia Assessed by a 10 Locus FISH Panel. *Oncol. Rep.* **2020**, *43*, 877–885, doi:10.3892/OR.2020.7461/HTML.
 162. Siebers, T.J.H.; Bergshoeff, V.E.; Otte-Höller, I.; Kremer, B.; Speel, E.J.M.; van der Laak, J.A.W.M.; Merks, M.A.W.; Slootweg, P.J. Chromosome Instability Predicts the Progression of Premalignant Oral Lesions. *Oral Oncol.* **2013**, *49*, 1121–1128, doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2013.09.006.
 163. Zaini, Z.M.; McParland, H.; Møller, H.; Husband, K.; Odell, E.W. Predicting Malignant Progression in Clinically High-Risk Lesions by DNA Ploidy Analysis and Dysplasia Grading. *Sci. Reports 2018 81* **2018**, *8*, 1–11, doi:10.1038/s41598-018-34165-5.
 164. Giaretti, W.; Monteghirfo, S.; Pentenero, M.; Gandolfo, S.; Malacarne, D.; Castagnola, P. Chromosomal Instability, DNA Index, Dysplasia, and Subsite in Oral Premalignancy as Intermediate Endpoints of Risk of Cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2013**, *22*, 1133–1141, doi:10.1158/1055-9965.EPI-13-0147/67584/AM/CHROMOSOMAL-INSTABILITY-DNA-INDEX-DYSPLASIA-AND.
 165. DE Jesus Oliveira Kato, V.; DE Abreu, M.C.; DE Brito Kato, A.M.; DE Souza, L.L.; Pontes, F.S.C.; DE Castro Sant’anna, C.; Gonçaves, A.J.; Pontes, Hé.A.R.; Khayat, A.S.; Burbano, R.M.R. Significance of P16(INK4A) Expression and PTEN Loss of Heterozygosity in Human Papilloma Virus-Related Oral Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res.* **2020**, *40*, 6355–6366, doi:10.21873/anticancer.14656.
 166. Yao, Y.; Gu, X.; Xu, X.; Ge, S.; Jia, R. Novel Insights into RB1 Mutation. *Cancer Lett.* **2022**, *547*, 215870, doi:10.1016/j.canlet.2022.215870.
 167. Liu, K.Y.P.; Lu, X.J.D.; Cheng, Y.S.L.; Klieb, H.; Ng, S.; McNeil, K.; Karsan, A.; Poh, C.F. An Actionable Test Using Loss of Heterozygosity in Identifying High-Risk Oral Premalignant Lesions. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* **2018**, *126*, 54–62, doi:10.1016/j.oooo.2017.10.019.

168. William, W.N.; Papadimitrakopoulou, V.; Lee, J.J.; Mao, L.; Cohen, E.E.W.; Lin, H.Y.; Gillenwater, A.M.; Martin, J.W.; Lingen, M.W.; Boyle, J.O.; et al. Erlotinib and the Risk of Oral Cancer: The Erlotinib Prevention of Oral Cancer (EPOC) Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* **2016**, *2*, 209–216, doi:10.1001/JAMAONCOL.2015.4364.
169. Zhang, L.; Rosin, M.P. Loss of Heterozygosity: A Potential Tool in Management of Oral Premalignant Lesions? *J. Oral Pathol. Med.* **2001**, *30*, 513–520, doi:10.1034/J.1600-0714.2001.300901.X.
170. 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.* **1998**, *34*, 77–83, doi:https://doi.org/10.1016/S1368-8375(97)00052-3.
171. Chakraborty, D.; Natarajan, C.; Mukherjee, A. *Advances in Oral Cancer Detection*; 1st ed.; Elsevier Inc., 2019; Vol. 91; ISBN 9780128174715.
172. Laco, J. Dlačicobunãñ ~ Karcinom Ústní Sliznice a Rtu v Dokumentaci Stomatologické Kliniky LF UK a FN v Hradci Králové v Letech 1988 – 2008 Oral Squamous Cell Carcinoma in the Annals of the Department of Dentistry in Hradec Králové. **2023**.
173. Kao, S.Y.; Lim, E. An Overview of Detection and Screening of Oral Cancer in Taiwan. *Chinese J. Dent. Res. Off. J. Sci. Sect. Chinese Stomatol. Assoc.* **2015**, *18*, 7–12.
174. Mahajan, A.; Ahuja, A.; Sable, N.; Stambuk, H.E. Imaging in Oral Cancers: A Comprehensive Review. *Oral Oncol.* **2020**, *104*, 104658, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2020.104658.
175. Henrot, P.; Blum, A.; Toussaint, B.; Troufleau, P.; Stines, J.; Roland, J. Dynamic Maneuvers in Local Staging of Head and Neck Malignancies with Current Imaging Techniques: Principles and Clinical Applications1. *RadioGraphics* **2003**, *23*, 1201–1213, doi:10.1148/RG.235025045.
176. Weissman, J.L.; Carrau, R.L. “Puffed-Cheek” CT Improves Evaluation of the Oral Cavity. *Am. J. Neuroradiol.* **2001**, *22*, 741 – 744.
177. Weimar, E.A.M.; Huang, S.H.; Lu, L.; O’Sullivan, B.; Perez-Ordóñez, B.; Weinreb, I.; Hope, A.; Tong, L.; Goldstein, D.; Irish, J. Radiologic-Pathologic Correlation of Tumor Thickness and Its Prognostic Importance in Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity: Implications for the Eighth Edition Tumor, Node, Metastasis Classification. *Am. J. Neuroradiol.* **2018**, *39*, 1896–1902.
178. Fagan, J.J.; Collins, B.; Barnes, L.; D’Amico, F.; Myers, E.N.; Johnson, J.T. Perineural Invasion in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Arch. Otolaryngol. Neck Surg.* **1998**, *124*, 637–640, doi:10.1001/archotol.124.6.637.
179. Nader, M.E.; Ginsberg, L.E.; Bell, D.; Roberts, D.B.; Gidley, P.W. Evaluating Perineural Spread to the Intratemporal Facial Nerve on Magnetic Resonance Imaging. *Otolaryngol. Neck Surg.* **2019**, *160*, 1087–1094, doi:10.1177/0194599819827848.
180. Gandhi, D.; Gujar, S.; Mukherji, S.K. Magnetic Resonance Imaging of Perineural

- Spread of Head and Neck Malignancies. *Top. Magn. Reson. Imaging* **2004**, *15*, 79–85, doi:10.1097/01.RMR.0000130601.57619.BD.
181. Nemzek, W.R.; Hecht, S.; Gandour-Edwards, R.; Donald, P.; McKennan, K. Perineural Spread of Head and Neck Tumors: How Accurate Is MR Imaging? *Am. J. Neuroradiol.* **1998**, *19*, 701–706.
 182. Kirsch, C.F.E.; Schmalfuss, I.M. Practical Tips for MR Imaging of Perineural Tumor Spread. *Magn. Reson. Imaging Clin. N. Am.* **2018**, *26*, 85–100, doi:https://doi.org/10.1016/j.mric.2017.08.006.
 183. Weber, A.L.; Romo, L.; Hashmi, S. Malignant Tumors of the Oral Cavity and Oropharynx: Clinical, Pathologic, and Radiologic Evaluation. *Neuroimaging Clin. N. Am.* **2003**, *13*, 443–464, doi:https://doi.org/10.1016/S1052-5149(03)00037-6.
 184. Yasumoto, M.; Shibuya, H.; Takeda, M.; Korenaga, T. Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity: MR Findings and Value of T1-versus T2-Weighted Fast Spin-Echo Images. *Am. J. Roentgenol.* **1995**, *164*, 981–987, doi:10.2214/ajr.164.4.7726062.
 185. Moreira, M.A.; Lessa, L.S.; Bortoli, F.R.; Lopes, A.; Xavier, E.P.; Ceretta, R.A.; Sônego, F.G.F.; Tomasi, C.D.; Pires, P.D.S.; Ceretta, L.B.; et al. Meta-Analysis of Magnetic Resonance Imaging Accuracy for Diagnosis of Oral Cancer. *PLoS One* **2017**, *12*, e0177462, doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0177462.
 186. Sigal, R.; Zagdanski, A.M.; Schwaab, G.; Bosq, J.; Auperin, A.; Laplanche, A.; Francke, J.P.; Eschwège, F.; Luboinski, B.; Vanel, D. CT and MR Imaging of Squamous Cell Carcinoma of the Tongue and Floor of the Mouth. <https://doi.org/10.1148/radiographics.16.4.8835972> **1996**, *16*, 787–810, doi:10.1148/RADIOGRAPHICS.16.4.8835972.
 187. Tomita, H.; Yamashiro, T.; Heianna, J.; Nakasone, T.; Kobayashi, T.; Mishiro, S.; Hirahara, D.; Takaya, E.; Mimura, H.; Murayama, S.; et al. Deep Learning for the Preoperative Diagnosis of Metastatic Cervical Lymph Nodes on Contrast-Enhanced Computed Tomography in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cancers (Basel)*. **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13040600.
 188. Alabi, R.O.; Youssef, O.; Pirinen, M.; Elmusrati, M.; Mäkitie, A.A.; Leivo, I.; Almangush, A. Machine Learning in Oral Squamous Cell Carcinoma: Current Status, Clinical Concerns and Prospects for Future-A Systematic Review. *Artif. Intell. Med.* **2021**, *115*, 102060, doi:10.1016/j.artmed.2021.102060.
 189. Lydiatt, W.M.; Patel, S.G.; O’Sullivan, B.; Brandwein, M.S.; Ridge, J.A.; Migliacci, J.C.; Loomis, A.M.; Shah, J.P. Head and Neck Cancers-Major Changes in the American Joint Committee on Cancer Eighth Edition Cancer Staging Manual. *CA. Cancer J. Clin.* **2017**, *67*, 122–137, doi:10.3322/caac.21389.
 190. Glastonbury, C.M.; Mukherji, S.K.; O’Sullivan, B.; Lydiatt, W.M. Setting the Stage for 2018: How the Changes in the American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control Cancer Staging Manual Eighth Edition Impact Radiologists. *Am. J. Neuroradiol.* **2017**, *38*, 2231 – 2237, doi:10.3174/ajnr.A5409.
 191. Dirven, R.; Ebrahimi, A.; Moeckelmann, N.; Palme, C.E.; Gupta, R.; Clark, J. Tumor Thickness versus Depth of Invasion – Analysis of the 8th Edition American Joint Committee on Cancer Staging for Oral Cancer. *Oral Oncol.* **2017**, *74*, 30–33,

doi:10.1016/j.oraloncology.2017.09.007.

192. Murakami, R.; Shiraishi, S.; Yoshida, R.; Sakata, J.; Yamana, K.; Hirose, A.; Uchiyama, Y.; Nakayama, H.; Yamashita, Y. Reliability of MRI-Derived Depth of Invasion of Oral Tongue Cancer. *Acad. Radiol.* **2019**, *26*, e180–e186, doi:https://doi.org/10.1016/j.acra.2018.08.021.
193. Lam, P.; Au-Yeung, K.M.; Cheng, P.W.; Wei, W.I.; Yuen, A.P.-W.; Trendell-Smith, N.; Li, J.H.C.; Li, R. Correlating MRI and Histologic Tumor Thickness in the Assessment of Oral Tongue Cancer. *Am. J. Roentgenol.* **2004**, *182*, 803–808, doi:10.2214/ajr.182.3.1820803.
194. Dirven, R.; Ebrahimi, A.; Moeckelmann, N.; Palme, C.E.; Gupta, R.; Clark, J. Tumor Thickness versus Depth of Invasion – Analysis of the 8th Edition American Joint Committee on Cancer Staging for Oral Cancer. *Oral Oncol.* **2017**, *74*, 30–33, doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2017.09.007.
195. Brouwer de Koning, S.G.; Karakullukcu, M.B.; Lange, C.A.H.; Ruers, T.J.M. The Oral Cavity Tumor Thickness: Measurement Accuracy and Consequences for Tumor Staging. *Eur. J. Surg. Oncol. J. Eur. Soc. Surg. Oncol. Br. Assoc. Surg. Oncol.* **2019**, *45*, 2131–2136, doi:10.1016/j.ejso.2019.06.005.
196. Tarabichi, O.; Bulbul, M.G.; Kanumuri, V. V.; Faquin, W.C.; Juliano, A.F.; Cunnane, M.E.; Varvares, M.A. Utility of Intraoral Ultrasound in Managing Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma: Systematic Review. *Laryngoscope* **2019**, *129*, 662–670, doi:10.1002/LARY.27403.
197. Okura, M.; Iida, S.; Aikawa, T.; Adachi, T.; Yoshimura, N.; Yamada, T.; Kogo, M. Tumor Thickness and Paralingual Distance of Coronal MR Imaging Predicts Cervical Node Metastases in Oral Tongue Carcinoma. *Am. J. Neuroradiol.* **2008**, *29*, 45–50, doi:10.3174/AJNR.A0749.
198. Mourad, M.A.F.; Higazi, M.M. MRI Prognostic Factors of Tongue Cancer: Potential Predictors of Cervical Lymph Nodes Metastases. *Radiol. Oncol.* **2019**, *53*, 49–56.
199. Su, Z.; Duan, Z.; Pan, W.; Wu, C.; Jia, Y.; Han, B.; Li, C. Predicting Extracapsular Spread of Head and Neck Cancers Using Different Imaging Techniques: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2016**, *45*, 413–421, doi:10.1016/J.IJOM.2015.11.021.
200. Katayama, I.; Sasaki, M.; Kimura, Y.; Hotokezaka, Y.; Eida, S.; Tashiro, S.; Sumi, M.; Nakamura, T. Comparison between Ultrasonography and MR Imaging for Discriminating Squamous Cell Carcinoma Nodes with Extranodal Spread in the Neck. *Eur. J. Radiol.* **2012**, *81*, 3326–3331, doi:10.1016/J.EJRAD.2012.06.018.
201. Kimura, Y.; Sumi, M.; Sakihama, N.; Tanaka, F.; Takahashi, H.; Nakamura, T. MR Imaging Criteria for the Prediction of Extranodal Spread of Metastatic Cancer in the Neck. *Am. J. Neuroradiol.* **2008**, *29*, 1355–1359, doi:10.3174/AJNR.A1088.
202. Chung, M.S.; Choi, Y.J.; Kim, S.O.; Lee, Y.S.; Hong, J.Y.; Lee, J.H.; Baek, J.H. A Scoring System for Prediction of Cervical Lymph Node Metastasis in Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Am. J. Neuroradiol.* **2019**, *40*, 1049–1054, doi:10.3174/AJNR.A6066.

203. Lodder, W.L.; Sewnaik, A.; Bakker, M.A. Den; Meeuwis, C.A.; Kerrebijn, J.D.F. Selective Neck Dissection for N0 and N1 Oral Cavity and Oropharyngeal Cancer: Are Skip Metastases a Real Danger? *Clin. Otolaryngol.* **2008**, *33*, 450–457, doi:10.1111/J.1749-4486.2008.01781.X.
204. Dziegielewski, P.T.; O’Connell, D.A.; Szudek, J.; Barber, B.; Joshi, A.; Harris, J.R.; Seikaly, H. Neck Metastases in Oropharyngeal Cancer: Necessity and Extent of Bilateral Treatment. *Head Neck* **2013**, *35*, 1461–1467, doi:10.1002/HED.23172.
205. Shah, J.P. Patterns of Cervical Lymph Node Metastasis from Squamous Carcinomas of the Upper Aerodigestive Tract. *Am. J. Surg.* **1990**, *160*, 405–409, doi:https://doi.org/10.1016/S0002-9610(05)80554-9.
206. Hoang, J.K.; Vanka, J.; Ludwig, B.J.; Glastonbury, C.M. Evaluation of Cervical Lymph Nodes in Head and Neck Cancer with CT and MRI: Tips, Traps, and a Systematic Approach. *Am. J. Roentgenol.* **2013**, *200*, doi:10.2214/AJR.12.8960.
207. Dai, Y.L.; King, A.D. State of the Art MRI in Head and Neck Cancer. *Clin. Radiol.* **2018**, *73*, 45–59, doi:https://doi.org/10.1016/j.crad.2017.05.020.
208. Mahajan, A.; Goh, V.; Basu, S.; Vaish, R.; Weeks, A.J.; Thakur, M.H.; Cook, G.J. Bench to Bedside Molecular Functional Imaging in Translational Cancer Medicine: To Image or to Imagine? *Clin. Radiol.* **2015**, *70*, 1060–1082, doi:https://doi.org/10.1016/j.crad.2015.06.082.
209. Chen, S.; Chen, Z.; Zou, G.; Zheng, S.; Zheng, K.; Zhang, J.; Huang, C.; Yao, S.; Miao, W. Accurate Preoperative Staging with [(68)Ga]Ga-FAPI PET/CT for Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma: A Comparison to 2-[(18)F]FDG PET/CT. *Eur. Radiol.* **2022**, *32*, 6070–6079, doi:10.1007/s00330-022-08686-7.
210. Sarrión Pérez, M.G.; Bagán, J. V; Jiménez, Y.; Margaix, M.; Marzal, C. Utility of Imaging Techniques in the Diagnosis of Oral Cancer. *J. cranio-maxillo-facial Surg. Off. Publ. Eur. Assoc. Cranio-Maxillo-Facial Surg.* **2015**, *43*, 1880–1894, doi:10.1016/j.jcms.2015.07.037.
211. Laimer, J.; Lauinger, A.; Steinmassl, O.; Offermanns, V.; Grams, A.E.; Zelger, B.; Bruckmoser, E. Cervical Lymph Node Metastases in Oral Squamous Cell Carcinoma-How Much Imaging Do We Need? *Diagnostics (Basel, Switzerland)* **2020**, *10*, doi:10.3390/diagnostics10040199.
212. Burian, E.; Palla, B.; Callahan, N.; Pyka, T.; Wolff, C.; von Schacky, C.E.; Schmid, A.; Froelich, M.F.; Rübenthaler, J.; Makowski, M.R.; et al. Comparison of CT, MRI, and F-18 FDG PET/CT for Initial N-Staging of Oral Squamous Cell Carcinoma: A Cost-Effectiveness Analysis. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2022**, *49*, 3870–3877, doi:10.1007/s00259-022-05843-4.
213. Frood, R.; Palkhi, E.; Barnfield, M.; Prestwich, R.; Vaidyanathan, S.; Scarsbrook, A. Can MR Textural Analysis Improve the Prediction of Extracapsular Nodal Spread in Patients with Oral Cavity Cancer? *Eur. Radiol.* **2018**, *28*, 5010–5018, doi:10.1007/S00330-018-5524-X/METRICS.
214. Jansen, J.F.; Lu, Y.; Gupta, G.; Lee, N.Y.; Stambuk, H.E.; Mazaheri, Y.; Deasy, J.O.; Shukla-Dave, A. Texture Analysis on Parametric Maps Derived from Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging in Head and Neck Cancer. *World*

- J. Radiol.* **2016**, *8*, 90–97, doi:10.4329/wjr.v8.i1.90.
215. Giovannacci, I.; Magnoni, C.; Vescovi, P.; Painelli, A.; Tarentini, E.; Meleti, M. Which Are the Main Fluorophores in Skin and Oral Mucosa? A Review with Emphasis on Clinical Applications of Tissue Autofluorescence. *Arch. Oral Biol.* **2019**, *105*, 89–98, doi:10.1016/J.ARCHORALBIO.2019.07.001.
 216. Laronde, D.M.; Williams, P.M.; Hislop, T.G.; Poh, C.; Ng, S.; Bajdik, C.; Zhang, L.; Macaulay, C.; Rosin, M.P. Influence of Fluorescence on Screening Decisions for Oral Mucosal Lesions in Community Dental Practices. *J. Oral Pathol. Med.* **2014**, doi:10.1111/jop.12090.
 217. Burian, E.; Schulz, C.; Probst, F.; Palla, B.; Tröltzsch, M.; Maglito, F.; Califano, L.; Ehrenfeld, M.; Otto, S. Fluorescence Based Characterization of Early Oral Squamous Cell Carcinoma Using the Visually Enhanced Light Scope Technique. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* **2017**, doi:10.1016/j.jcms.2017.05.021.
 218. Scheer, M.; Neugebauer, J.; Lingohr, T.; Zöllner, J.E. O.317 Evaluation of Undiagnosed Mucosa Lesions with the VELscope System. *J. Cranio-Maxillo-Facial Surg.* **2017**, *36*, S80, doi:10.1016/S1010-5182(08)71441-0.
 219. Sambandham, T.; Masthan, K.M.K.; Kumar, M.S.; Jha, A. The Application of Vizilite in Oral Cancer. *J. Clin. Diagn. Res.* **2013**, *7*, 185–186, doi:10.7860/JCDR/2012/5163.2704.
 220. Dedivitis, R.A.; Pfuetschenreiter, E.G.; Guimarães, A. V Contact Endoscopy of the Larynx as an Auxiliary Method to the Surgical Margins in Frontolateral Laryngectomy. *Acta Otorhinolaryngol. Ital.* **2009**, *29*, 16–20.
 221. Cikojević, D.; Glunčić, I.; Pešutić-Pisac, V. Comparison of Contact Endoscopy and Frozen Section Histopathology in the Intra-Operative Diagnosis of Laryngeal Pathology. *J. Laryngol. Otol.* **2008**, *122*, 836–839, doi:10.1017/S0022215107000539.
 222. Esmaeili, N.; Boese, A.; Davaris, N.; Arens, C.; Navab, N.; Friebe, M.; Illanes, A. Cyclist Effort Features: A Novel Technique for Image Texture Characterization Applied to Larynx Cancer Classification in Contact Endoscopy—Narrow Band Imaging. *Diagnostics* **2021**, *11*, doi:10.3390/DIAGNOSTICS11030432.
 223. Vu, A.N.; Farah, C.S. Efficacy of Narrow Band Imaging for Detection and Surveillance of Potentially Malignant and Malignant Lesions in the Oral Cavity and Oropharynx: A Systematic Review. *Oral Oncol.* **2014**, *50*, 413–420, doi:10.1016/j.oraloncology.2014.02.002.
 224. Tirelli, G.; Piovesana, M.; Gatto, A.; Tofanelli, M.; Biasotto, M.; Boscolo Nata, F. Narrow Band Imaging in the Intra-Operative Definition of Resection Margins in Oral Cavity and Oropharyngeal Cancer. *Oral Oncol.* **2015**, doi:10.1016/j.oraloncology.2015.07.005.
 225. Piazza, C.; Cocco, D.; Del Bon, F.; Mangili, S.; Nicolai, P.; Peretti, G. Narrow Band Imaging and High Definition Television in the Endoscopic Evaluation of Upper Aero-Digestive Tract Cancer. *Acta Otorhinolaryngol. Ital.* **2011**, *31*, 70–75.
 226. Rezniczek, G.A.; Ertan, S.; Rehman, S.; Tempfer, C.B. Sequential Application of Lugol's Iodine Test after Acetic Acid for Detecting Cervical Dysplasia: A Prospective

- Cohort Study. *Diagnostics* 2021, Vol. 11, Page 1598 **2021**, 11, 1598, doi:10.3390/DIAGNOSTICS11091598.
227. McMahon, J.; Devine, J.C.; McCaul, J.A.; McLellan, D.R.; Farrow, A. Use of Lugol's Iodine in the Resection of Oral and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2010**, *48*, 84–87, doi:10.1016/j.bjoms.2009.05.007.
 228. Umeda, M.; Shigeta, T.; Takahashi, H.; Minamikawa, T.; Komatsubara, H.; Oguni, A.; Shibuya, Y.; Komori, T. Clinical Evaluation of Lugol's Iodine Staining in the Treatment of Stage I-II Squamous Cell Carcinoma of the Tongue. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2011**, *40*, 593–596, doi:10.1016/j.ijom.2010.11.026.
 229. Watanabe, A.; Taniguchi, M.; Tsujie, H.; Hosokawa, M.; Fujita, M.; Sasaki, S. Clinical Impact of Iodine Staining for Diagnosis of Carcinoma in Situ in the Floor of Mouth, and Decision of Adequate Surgical Margin. *Auris Nasus Larynx* **2012**, *39*, 193–197, doi:10.1016/j.anl.2011.08.004.
 230. Sridharan, G.; Shankar, A. Toluidine Blue: A Review of Its Chemistry and Clinical Utility. *J. Oral Maxillofac. Pathol.* **2012**, doi:10.4103/0973-029X.99081.
 231. Vijayakumar, V.; Reghunathan, D.; Edacherian, B.; Mukundan, A. Role of Toluidine Blue Staining in Suspicious Lesions of Oral Cavity and Oropharynx. *Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg.* **2019**, *71*, 142, doi:10.1007/S12070-017-1161-Y.
 232. Fatima, S.; Basu, R.; Hallur, N.H. Lugol's Iodine Identifies Dysplastic Tissue in Precancerous Lesions: A Clinical Trial. *Ann. Maxillofac. Surg.* **2016**, *6*, 172, doi:10.4103/2231-0746.200333.
 233. Yadav, G.S.; Donoghue, M.; Tauro, D.P.; Yadav, A.; Agarwal, S. Intraoperative Imprint Evaluation of Surgical Margins in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Acta Cytol.* **2013**, *57*, 75–83, doi:10.1159/000342916.
 234. Hamdoon, Z.; Jerjes, W.; McKenzie, G.; Jay, A.; Hopper, C. Assessment of Tumour Resection Margins Using Optical Coherence Tomography. *Head Neck Oncol.* **2010**, *2*, O7, doi:10.1186/1758-3284-2-S1-O7.
 235. Hamdoon, Z.; Jerjes, W.; McKenzie, G.; Jay, A.; Hopper, C. Optical Coherence Tomography in the Assessment of Oral Squamous Cell Carcinoma Resection Margins. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2016**, *13*, 211–217, doi:10.1016/j.pdpdt.2015.07.170.
 236. Panzarella, V.; Buttacavoli, F.; Gambino, A.; Capocasale, G.; Di Fede, O.; Mauceri, R.; Rodolico, V.; Campisi, G. Site-Coded Oral Squamous Cell Carcinoma Evaluation by Optical Coherence Tomography (OCT): A Descriptive Pilot Study. *Cancers (Basel)*. **2022**, *14*, doi:10.3390/cancers14235916.
 237. Zhu, Y.; Terry, N.G.; Wax, A. Angle-Resolved Low-Coherence Interferometry: An Optical Biopsy Technique for Clinical Detection of Dysplasia in Barrett's Esophagus. **2012**, doi:10.1586/egh.11.83.
 238. Terry, N.; Zhu, Y.; Thacker, J.K.M.; Migaly, J.; Guy, C.; Mantyh, C.R.; Wax, A. Detection of Intestinal Dysplasia Using Angle-Resolved Low Coherence Interferometry. *J. Biomed. Opt.* **2011**, *16*, 106002, doi:10.1117/1.3631799.
 239. Wax, A.; Chalut, K.J. Nuclear Morphology Measurements with Angle-Resolved Low

- Coherence Interferometry for Application to Cell Biology and Early Cancer Detection. *Anal. Cell. Pathol.* **2011**, *34*, 207–222, doi:10.3233/ACP-2011-0017.
240. Wax, A.; Pyhtila, J.W.; Graf, R.N.; Nines, R.; Boone, C.W.; Dasari, R.R.; Feld, M.S.; Steele, V.E.; Stoner, G.D. Prospective Grading of Neoplastic Change in Rat Esophagus Epithelium Using Angle-Resolved Low-Coherence Interferometry. *J. Biomed. Opt.* **2005**, *10*, 51604, doi:10.1117/1.2102767.
 241. VaShiSht, N.; Samatha, Y.; Rao, P.C.; Naik, R.; VaShiSht, D. Chemiluminescence and Toluidine Blue as Diagnostic Tools for Detecting Early Stages of Oral Cancer: An In vivo Study Dentistry Section. *J. Clin. Diagnostic Res.* **2014**, *8*, 35–38, doi:10.7860/JCDR/2014/7746.4259.
 242. De Veld, D.C.G.; Witjes, M.J.H.; Sterenborg, H.J.C.M.; Roodenburg, J.L.N. The Status of in Vivo Autofluorescence Spectroscopy and Imaging for Oral Oncology. *Oral Oncol.* **2005**, *41*, 117–131, doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2004.07.007.
 243. Nogueira, M.S.; Maryam, S.; Amisshah, M.; Lu, H.; Lynch, N.; Killeen, S.; O’Riordain, M.; Andersson-Engels, S. Evaluation of Wavelength Ranges and Tissue Depth Probed by Diffuse Reflectance Spectroscopy for Colorectal Cancer Detection. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 798, doi:10.1038/s41598-020-79517-2.
 244. Ebenezar, J.; Aruna, P.; Ganesan, S. Synchronous Fluorescence Spectroscopy for the Detection and Characterization of Cervical Cancers In Vitro. *Photochem. Photobiol.* **2010**, *86*, 77–86, doi:10.1111/J.1751-1097.2009.00628.X.
 245. Gillies, R.; Zonios, G.; Anderson, R.R.; Kollias, N. Fluorescence Excitation Spectroscopy Provides Information about Human Skin in Vivo. *J. Invest. Dermatol.* **2000**, *115*, 704–707, doi:10.1046/j.1523-1747.2000.00091.x.
 246. Juzenas, P.; Juzeniene, A.; Kaalhus, O.; Iani, V.; Moan, J. Noninvasive Fluorescence Excitation Spectroscopy during Application of 5-Aminolevulinic Acid in Vivo. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2002**, *1*, 745–748, doi:10.1039/b203459j.
 247. Ebenezar, J.; Ganesan, S.; Aruna, P.; Muralinaidu, R.; Renganathan, K.; Saraswathy, T.R. Noninvasive Fluorescence Excitation Spectroscopy for the Diagnosis of Oral Neoplasia in Vivo. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.9.097007> **2012**, *17*, 97007, doi:10.1117/1.JBO.17.9.097007.
 248. Skala, M.C.; Palmer, G.M.; Vrotsos, K.M.; Gendron-Fitzpatrick, A.; Ramanujam, N. Comparison of a Physical Model and Principal Component Analysis for the Diagnosis of Epithelial Neoplasias in Vivo Using Diffuse Reflectance Spectroscopy. *Opt. Express* **2007**, *15*, 7863–7875, doi:10.1364/OE.15.007863.
 249. Schwarz, R.A.; Gao, W.; Daye, D.; Williams, M.D.; Richards-Kortum, R.; Gillenwater, A.M. Autofluorescence and Diffuse Reflectance Spectroscopy of Oral Epithelial Tissue Using a Depth-Sensitive Fiber-Optic Probe. *Appl. Opt.* **2008**, *47*, 825–834, doi:10.1364/ao.47.000825.
 250. Subhash, N.; Mallia, J.R.; Thomas, S.S.; Mathews, A.; Sebastian, P.; Madhavan, J. Oral Cancer Detection Using Diffuse Reflectance Spectral Ratio R540/R575 of Oxygenated Hemoglobin Bands. *J. Biomed. Opt.* **2006**, *11*, 14018, doi:10.1117/1.2165184.

251. Han, R.; Lin, N.; Huang, J.; Ma, X. Corrigendum: Diagnostic Accuracy of Raman Spectroscopy in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 1030058.
252. Matthies, L.; Gebrekidan, M.T.; Tegtmeyer, J.F.; Oetter, N.; Rohde, M.; Vollkommer, T.; Smeets, R.; Wilczak, W.; Stelzle, F.; Gosau, M.; et al. Optical Diagnosis of Oral Cavity Lesions by Label-Free Raman Spectroscopy. *Biomed. Opt. Express* **2021**, *12*, 836–851, doi:10.1364/BOE.409456.
253. Tan, Y.; Yan, B.; Xue, L.; Li, Y.; Luo, X.; Ji, P. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Blood Serum Based on Gold Nanoparticles for the Diagnosis of the Oral Squamous Cell Carcinoma. *Lipids Health Dis.* **2017**, *16*, 73, doi:10.1186/s12944-017-0465-y.
254. Ibrahim, O.; Toner, M.; Flint, S.; Byrne, H.J.; Lyng, F.M. The Potential of Raman Spectroscopy in the Diagnosis of Dysplastic and Malignant Oral Lesions. *Cancers (Basel)*. **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13040619.
255. Han, R.; Lin, N.; Huang, J.; Ma, X. Diagnostic Accuracy of Raman Spectroscopy in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 925032.
256. Shurrab, K.; Kochaji, N.; Bachir, W. Elastic Scattering Spectroscopy for Monitoring Skin Cancer Transformation and Therapy in the near Infrared Window. *Lasers Med. Sci.* **2020**, *35*, 701–708, doi:10.1007/s10103-019-02894-2.
257. Bigio, I.J.; Mourant, J.R. Ultraviolet and Visible Spectroscopies for Tissue Diagnostics: Fluorescence Spectroscopy and Elastic-Scattering Spectroscopy. *Phys. Med. Biol.* **1997**, *42*, 803–814, doi:10.1088/0031-9155/42/5/005.
258. Sircan-Kucuksayan, A.; Yaprak, N.; Derin, A.T.; Ozbudak, İ.H.; Turhan, M.; Canpolat, M. Noninvasive Assessment of Oral Lesions Using Elastic Light Single-Scattering Spectroscopy: A Pilot Study. *Eur. Arch. oto-rhino-laryngology Off. J. Eur. Fed. Oto-Rhino-Laryngological Soc. Affil. with Ger. Soc. Oto-Rhino-Laryngology - Head Neck Surg.* **2020**, *277*, 1467–1472, doi:10.1007/s00405-020-05824-z.
259. Almangush, A.; Mäkitie, A.A.; Triantafyllou, A.; de Bree, R.; Strojjan, P.; Rinaldo, A.; Hernandez-Prera, J.C.; Suárez, C.; Kowalski, L.P.; Ferlito, A.; et al. Staging and Grading of Oral Squamous Cell Carcinoma: An Update. *Oral Oncol.* **2020**, *107*, 104799, doi:10.1016/j.oraloncology.2020.104799.
260. Panarese, I.; Aquino, G.; Ronchi, A.; Longo, F.; Montella, M.; Cozzolino, I.; Roccuzzo, G.; Colella, G.; Caraglia, M.; Franco, R. Oral and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma: Prognostic and Predictive Parameters in the Etiopathogenetic Route. *Expert Rev. Anticancer Ther.* **2019**, *19*, 105–119, doi:10.1080/14737140.2019.1561288.
261. Zanoni, D.K.; Montero, P.H.; Migliacci, J.C.; Shah, J.P.; Wong, R.J.; Ganly, I.; Patel, S.G. Survival Outcomes after Treatment of Cancer of the Oral Cavity (1985-2015). *Oral Oncol.* **2019**, *90*, 115–121, doi:10.1016/j.oraloncology.2019.02.001.
262. Michalek, J; Pink, R; Dvorak, Z; Brychtova, S; Kral, D; Tvrdy, P Kolar, Z. COMPARISON OF HISTOPATHOLOGICAL AND CLINICAL PROGNOSTIC FACTORS OF ORAL SQUAMOUS CELL Original Article – Clinical and Pathological Study. *Česká Stomatol. / Prakt. Zub. lékařství* **2019**, *119*, 68–79.

263. Karaca, I.R.; Ozturk, D.N. Oral Cancer: Etiology and Risk Factors. *J. Cancer Res. Ther.* 2019, *15*, 739.
264. Knegiens, J.L.; Hauptmann, M.; Pameijer, F.A.; Balm, A.J.; Hoebbers, F.J.; de Bois, J.A.; Kaanders, J.H.; van Herpen, C.M.; Verhoef, C.G.; Wijers, O.B.; et al. Tumor Volume as Prognostic Factor in Chemoradiation for Advanced Head and Neck Cancer. *Head Neck* **2011**, *33*, 375–382, doi:10.1002/hed.21459.
265. Vassiliou, L. V; Acero, J.; Gulati, A.; Hölzle, F.; Hutchison, I.L.; Prabhu, S.; Testelin, S.; Wolff, K.-D.; Kalavrezos, N. Management of the Clinically N0 Neck in Early-Stage Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC). An EACMFS Position Paper. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* **2020**, *48*, 711–718, doi:https://doi.org/10.1016/j.jcms.2020.06.004.
266. Essig, H.; Warraich, R.; Zulfiqar, G.; Rana, M.; Eckardt, A.M.; Gellrich, N.-C.; Rana, M. Assessment of Cervical Lymph Node Metastasis for Therapeutic Decision-Making in Squamous Cell Carcinoma of Buccal Mucosa: A Prospective Clinical Analysis. *World J. Surg. Oncol.* **2012**, *10*, doi:10.1186/1477-7819-10-253.
267. Sharpe, D.T. The Pattern of Lymph Node Metastases in Intra-Oral Squamous Cell Carcinoma. *Br. J. Plast. Surg.* **1981**, *34*, 97 – 101, doi:10.1016/0007-1226(81)90110-7.
268. Broglie, M.A.; Haerle, S.K.; Huber, G.F.; Haile, S.R.; Stoeckli, S.J. Occult Metastases Detected by Sentinel Node Biopsy in Patients with Early Oral and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinomas: Impact on Survival. *Head Neck* **2013**, *35*, 660 – 666, doi:10.1002/hed.23017.
269. Boeve, K.; Schepman, K.-P.; der veegt, B.; Schuurin, E.; Roodenburg, J.L.; Brouwers, A.H.; Witjes, M.J. Lymphatic Drainage Patterns of Oral Maxillary Tumors: Approachable Locations of Sentinel Lymph Nodes Mainly at the Cervical Neck Level. *Head Neck* **2017**, *39*, 486 – 491, doi:10.1002/hed.24628.
270. Woolgar, J.A. The Topography of Cervical Lymph Node Metastases Revisited: The Histological Findings in 526 Sides of Neck Dissection from 439 Previously Untreated Patients. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2007**, *36*, 219 – 225, doi:10.1016/j.ijom.2006.10.014.
271. Shah, J.P.; Candela, F.C.; Poddar, A.K. The Patterns of Cervical Lymph Node Metastases from Squamous Carcinoma of the Oral Cavity. *Cancer* **1990**, *66*, 109 – 113, doi:10.1002/1097-0142(19900701)66:1<109::AID-CNCR2820660120>3.0.CO;2-A.
272. Lindberg, R. Distribution of Cervical Lymph Node Metastases from Squamous Cell Carcinoma of the Upper Respiratory and Digestive Tracts. *Cancer* **1972**, *29*, 1446 – 1449, doi:10.1002/1097-0142(197206)29:6<1446::AID-CNCR2820290604>3.0.CO;2-C.
273. Kowalski, L.P.; Bagietto, R.; Lara, J.R.L.; Santos, R.L.; Tagawa, E.K.; Santos, I.R.B. Factors Influencing Contralateral Lymph Node Metastasis from Oral Carcinoma. *Head Neck* **1999**, *21*, 104 – 110, doi:10.1002/(SICI)1097-0347(199903)21:2<104::AID-HED2>3.0.CO;2-L.
274. Warshavsky, A.; Rosen, R.; Nard-Carmel, N.; Abu-Ghanem, S.; Oestreicher-Kedem,

- Y.; Abergel, A.; Fliss, D.M.; Horowitz, G. Assessment of the Rate of Skip Metastasis to Neck Level Iv in Patients with Clinically Node-Negative Neck Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA Otolaryngol. - Head Neck Surg.* **2019**, *145*, 542 – 548, doi:10.1001/jamaoto.2019.0784.
275. Lim, Y.C.; Song, M.H.; Kim, S.C.; Kim, K.M.; Choi, E.C. Preserving Level Iib Lymph Nodes in Elective Supraomohyoid Neck Dissection for Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *Arch. Otolaryngol. - Head Neck Surg.* **2004**, *130*, 1088 – 1091, doi:10.1001/archotol.130.9.1088.
276. Elsheikh, M.N.; Mahfouz, M.E.; Elsheikh, E. Level Iib Lymph Nodes Metastasis in Elective Supraomohyoid Neck Dissection for Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: A Molecular-Based Study. *Laryngoscope* **2005**, *115*, 1636 – 1640, doi:10.1097/01.mlg.0000176540.33486.c3.
277. Crean, S.-J.; Hoffman, A.; Potts, J.; Fardy, M.J. Reduction of Occult Metastatic Disease by Extension of the Supraomohyoid Neck Dissection to Include Level IV. *Head Neck* **2003**, *25*, 758 – 762, doi:10.1002/hed.10282.
278. Cariati, P.; Cabello Serrano, A.; Fernandez Solis, J.; Martinez Lara, I. Distribution of Cervical Metastasis in Tongue Cancer: Are Occult Metastases Predictable? A Retrospective Study of 117 Oral Tongue Carcinomas. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* **2018**, *46*, 155 – 161, doi:10.1016/j.jcms.2017.10.009.
279. Capote-Moreno, A.; Naval, L.; Muñoz-Guerra, M.F.; Sastre, J.; Rodríguez-Campo, F.J. Prognostic Factors Influencing Contralateral Neck Lymph Node Metastases in Oral and Oropharyngeal Carcinoma. *J. Oral Maxillofac. Surg.* **2010**, *68*, 268 – 275, doi:10.1016/j.joms.2009.09.071.
280. Byers, R.M.; Weber, R.S.; Andrews, T.; McGill, D.; Kare, R.; Wolf, P. Frequency and Therapeutic Implications of “skip Metastases” in the Neck from Squamous Carcinoma of the Oral Tongue. *Head Neck* **1997**, *19*, 14 – 19, doi:10.1002/(sici)1097-0347(199701)19:1<14::aid-hed3>3.0.co;2-y.
281. D’Cruz, A.K.; Vaish, R.; Kapre, N.; Dandekar, M.; Gupta, S.; Hawaldar, R.; Agarwal, J.P.; Pantvaitya, G.; Chaukar, D.; Deshmukh, A.; et al. Elective versus Therapeutic Neck Dissection in Node-Negative Oral Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *373*, 521–529, doi:10.1056/NEJMoa1506007.
282. Lydiatt, D.D.; Robbins, K.T.; Byers, R.M.; Wolf, P.F. Treatment of Stage I and II Oral Tongue Cancer. *Head Neck* **1993**, *15*, 308 – 312, doi:10.1002/hed.2880150407.
283. Andersen, P.E.; Jose, E.C.; Shaha, A.R.; Shah, J.P. The Extent of Neck Disease after Regional Failure during Observation of the N 0 Neck. *Am. J. Surg.* **1996**, *172*, 689 – 691, doi:10.1016/S0002-9610(96)00290-5.
284. Zenga, J.; Divi, V.; Stadler, M.; Massey, B.; Campbell, B.; Shukla, M.; Awan, M.; Schultz, C.J.; Shreenivas, A.; Wong, S.; et al. Lymph Node Yield, Depth of Invasion, and Survival in Node-Negative Oral Cavity Cancer. *Oral Oncol.* **2019**, *98*, 125 – 131, doi:10.1016/j.oraloncology.2019.09.028.
285. Ebrahimi, A.; Clark, J.R.; Amit, M.; Yen, T.C.; Liao, C.-T.; Kowalski, L.P.; Kreppel, M.; Cernea, C.R.; Bachar, G.; Villaret, A.B.; et al. Minimum Nodal Yield in Oral

- Squamous Cell Carcinoma: Defining the Standard of Care in a Multicenter International Pooled Validation Study. *Ann. Surg. Oncol.* **2014**, *21*, 3049 – 3055, doi:10.1245/s10434-014-3702-x.
286. Huang, S.-F.; Kang, C.-J.; Lin, C.-Y.; Fan, K.-H.; Yen, T.-C.; Wang, H.-M.; Chen, I.-H.; Liao, C.-T.; Cheng, A.-J.; Chang, J.T.-C. Neck Treatment of Patients with Early Stage Oral Tongue Cancer: Comparison between Observation, Supraomohyoid Dissection, and Extended Dissection. *Cancer* **2008**, *112*, 1066 – 1075, doi:10.1002/cncr.23278.
 287. Van Den Brekel, M.W.M.; Leemans, C.R.; Snow, G.B. Assessment and Management of Lymph Node Metastases in the Neck in Head and Neck Cancer Patients. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **1996**, *22*, 175–182, doi:10.1016/1040-8428(96)00191-6.
 288. Ferlito, A.; Shaha, A.R.; Rinaldo, A. The Incidence of Lymph Node Micrometastases in Patients Pathologically Staged N0 in Cancer of Oral Cavity and Oropharynx. *Oral Oncol.* **2002**, *38*, 3 – 5, doi:10.1016/S1368-8375(01)00037-9.
 289. Schilling, C.; Stoeckli, S.J.; Haerle, S.K.; Broglie, M.A.; Huber, G.F.; Sorensen, J.A.; Bakholdt, V.; Krogdahl, A.; Von Buchwald, C.; Bilde, A.; et al. Sentinel European Node Trial (SENT): 3-Year Results of Sentinel Node Biopsy in Oral Cancer. *Eur. J. Cancer* **2015**, *51*, 2777–2784, doi:10.1016/j.ejca.2015.08.023.
 290. Den Toom, I.J.; Heuveling, D.A.; Flach, G.B.; Van Weert, S.; Karagozoglu, K.H.; Van Schie, A.; Bloemena, E.; Leemans, C.R.; De Bree, R. Sentinel Node Biopsy for Early-Stage Oral Cavity Cancer: The VU University Medical Center Experience. *Head Neck* **2015**, *37*, 573–578, doi:10.1002/hed.23632.
 291. Civantos Jr., F.J.; Zitsch, R.P.; Schuller, D.E.; Agrawal, A.; Smith, R.B.; Nason, R.; Petruzelli, G.; Gourin, C.G.; Wong, R.J.; Ferris, R.L.; et al. Sentinel Lymph Node Biopsy Accurately Stages the Regional Lymph Nodes for T1-T2 Oral Squamous Cell Carcinomas: Results of a Prospective Multi-Institutional Trial. *J. Clin. Oncol.* **2010**, *28*, 1395–1400, doi:10.1200/JCO.2008.20.8777.
 292. Sawant, S.S.; Dongre, H.; Ahire, C.; Sharma, S.; Kannan, S.; Mahadik, S.; Chaukar, D.; Lukmani, F.; Patil, A.; D’Cruz, A.; et al. A Nomogram for Predicting the Risk of Neck Node Metastasis in Pathologically Node-Negative Oral Cavity Carcinoma. *Oral Dis.* **2017**, *23*, 1087–1098, doi:10.1111/odi.12696.
 293. Lee, A.; Li, X.; Lee, N. Head and Neck Cancers. *Princ. Pract. Part. Ther.* **2022**, 239–260, doi:10.1002/9781119707530.ch16.
 294. Quinton, B.A.; Cabrera, C.I.; Tamaki, A.; Li, S.; Fowler, N.; Rezaee, R.; Lavertu, P.; Teknos, T.; Pan, Q.; Thuener, J. The Impact of Microscopic versus Macroscopic Extranodal Extension in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: National Cancer Database Analysis and Review of the Literature. *Am. J. Otolaryngol.* **2022**, *43*, 103511, doi:https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2022.103511.
 295. Greenberg, J.S.; Fowler, R.; Gomez, J.; Mo, V.; Roberts, D.; El Naggar, A.K.; Myers, J.N. Extent of Extracapsular Spread: A Critical Prognosticator in Oral Tongue Cancer. *Cancer* **2003**, *97*, 1464 – 1470, doi:10.1002/cncr.11202.
 296. Wreesmann, V.B.; Katabi, N.; Palmer, F.L.; Montero, P.H.; Migliacci, J.C.; Gönen, M.; Carlson, D.; Ganly, I.; Shah, J.P.; Ghossein, R.; et al. Influence of Extracapsular

- Nodal Spread Extent on Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Head Neck* **2016**, *38*, E1192 – E1199, doi:10.1002/hed.24190.
297. Chen, T.-C.; Hsu, C.-W.; Lou, P.-J.; Ko, J.-Y.; Yang, T.-L.; Chen, C.-N.; Chang, Y.-L.; Wang, C.-P. The Clinical Predictive Factors for Subsequent Distant Metastasis in Patients with Locoregionally Advanced Oral Squamous Cell Carcinoma. *Oral Oncol.* **2013**, *49*, 367–373, doi:10.1016/j.oraloncology.2012.10.006.
 298. Coca-Pelaz, A.; Rodrigo, J.P.; Suárez, C. Clinicopathologic Analysis and Predictive Factors for Distant Metastases in Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. *Head Neck* **2012**, *34*, 771–775, doi:10.1002/hed.21804.
 299. Li, X.; Di, B.; Shang, Y.; Zhou, Y.; Cheng, J.; He, Z. Clinicopathologic Risk Factors for Distant Metastases from Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. *Eur. J. Surg. Oncol. J. Eur. Soc. Surg. Oncol. Br. Assoc. Surg. Oncol.* **2009**, *35*, 1348–1353, doi:10.1016/j.ejso.2009.06.010.
 300. Rodrigo, J.P.; Martínez, P.; Allonca, E.; Alonso-Durán, L.; Suárez, C.; Astudillo, A.; García-Pedrero, J.M. Immunohistochemical Markers of Distant Metastasis in Laryngeal and Hypopharyngeal Squamous Cell Carcinomas. *Clin. Exp. Metastasis* **2014**, *31*, 317–325, doi:10.1007/s10585-013-9630-5.
 301. Binmadi, N.O.; Basile, J.R. Perineural Invasion in Oral Squamous Cell Carcinoma: A Discussion of Significance and Review of the Literature. *Oral Oncol.* **2011**, *47*, 1005–1010, doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.08.002.
 302. Mao, L.; Hong, W.K.; Papadimitrakopoulou, V.A. Focus on Head and Neck Cancer. *Cancer Cell* **2004**, *5*, 311–316, doi:10.1016/S1535-6108(04)00090-X.
 303. Alkhadar, H.; Macluskey, M.; White, S.; Ellis, I. Perineural Invasion in Oral Squamous Cell Carcinoma: Incidence, Prognostic Impact and Molecular Insight. *J. Oral Pathol. Med.* **2020**, *49*, 994–1003, doi:10.1111/jop.13069.
 304. Dunn, M.; Morgan, M.B.; Beer, T.W. Perineural Invasion: Identification, Significance, and a Standardized Definition. *Dermatologic Surg.* **2009**, *35*.
 305. Miller, M.E.; Palla, B.; Chen, Q.; Elashoff, D.A.; Abemayor, E.; St. John, M.A.; Lai, C.K. A Novel Classification System for Perineural Invasion in Noncutaneous Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Histologic Subcategories and Patient Outcomes. *Am. J. Otolaryngol.* **2012**, *33*, 212–215, doi:https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2011.06.003.
 306. Bockman, D.E.; Büchler, M.; Beger, H.G. Interaction of Pancreatic Ductal Carcinoma with Nerves Leads to Nerve Damage. *Gastroenterology* **1994**, *107*, 219–230, doi:10.1016/0016-5085(94)90080-9.
 307. Durrani, Z. A Study of Prognostic Significance of Perineural Invasion in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Online J. Dent. Oral Heal.* **2021**, *4*, 1–6, doi:10.33552/ojdoh.2021.04.000588.
 308. Goswami, P.R.; Singh, G. Perineural Invasion (PNI) Definition, Histopathological Parameters of PNI in Oral Squamous Cell Carcinoma With Molecular Insight and Prognostic Significance. *Cureus* **2023**, *15*, doi:10.7759/cureus.40165.
 309. Zubair, F.; Farooq, S.; Wright, S.; Schipani, S.; McMahon, J. Patterns of Recurrence

- amongst Patients Undergoing Resection of Oral Squamous Cell Carcinoma with Curative Intent. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2022**, *60*, 1379–1384, doi:10.1016/j.bjoms.2022.07.015.
310. Sultania, M.; Chaudhary, I.; Jain, P.; Ghalige, H.; Rajan, D.; G, S.; K, R.; Muduly, D.; Barik, S.; Pathak, M.; et al. Margin to Depth of Invasion Ratio: A Significant Predictor of Survival in Patients With Oral Cancer. *JCO Glob. Oncol.* **2023**, *9*, e2300144, doi:10.1200/GO.23.00144.
 311. Wunschel, M.; Neumeier, M.; Utpatel, K.; Reichert, T.E.; Ettl, T.; Spanier, G. Staging More Important than Grading? Evaluation of Malignancy Grading, Depth of Invasion, and Resection Margins in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Clin. Oral Investig.* **2021**, *25*, 1169–1182, doi:10.1007/s00784-020-03421-2.
 312. Riemenschnitter, C.E.; Morand, G.B.; Schouten, C.S.; Rupp, N.J.; Balermipas, P.; Gander, T.; Broglie Däppen, M.A. Need for Adjuvant Radiotherapy in Oral Cancer: Depth of Invasion Rather than Tumor Diameter. *Eur. Arch. oto-rhino-laryngology Off. J. Eur. Fed. Oto-Rhino-Laryngological Soc. Affil. with Ger. Soc. Oto-Rhino-Laryngology - Head Neck Surg.* **2023**, *280*, 339–346, doi:10.1007/s00405-022-07561-x.
 313. Nisi, M.; Gennai, S.; Graziani, F.; Izzetti, R. The Reliability of Ultrasonographic Assessment of Depth of Invasion: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Diagnostics (Basel, Switzerland)* **2023**, *13*, doi:10.3390/diagnostics13172833.
 314. Majumdar, K.S.; Kaul, P.; Kailey, V.S.; Maharaj, D.D.; Thaduri, A.; Ilahi, I.; Panuganti, A.; Usmani, S.A.; Singh, A.; Poonia, D.R.; et al. Radiological Tumor Thickness as a Clinical Predictor of Pathological Depth of Invasion in Oral Squamous Cell Carcinoma: A Retrospective Analysis. *Eur. Arch. oto-rhino-laryngology Off. J. Eur. Fed. Oto-Rhino-Laryngological Soc. Affil. with Ger. Soc. Oto-Rhino-Laryngology - Head Neck Surg.* **2023**, *280*, 1417–1423, doi:10.1007/s00405-022-07692-1.
 315. Shibahara, T.; Nomura, T.; Cui, N.; Noma, H.A. Head and Neck Oncology A Study of Osteoclast-Related Cytokines in Mandibular Invasion by Squamous Cell Carcinoma. **2005**, 789–793, doi:10.1016/j.ijom.2005.03.008.
 316. Kayamori, K.; Sakamoto, K.; Nakashima, T.; Takayanagi, H.; Morita, K.; Omura, K.; Nguyen, S.T.; Miki, Y.; Imura, T.; Himeno, A.; et al. Roles of Interleukin-6 and Parathyroid Hormone-Related Peptide in Osteoclast Formation Associated with Oral Cancers Significance of Interleukin-6 Synthesized by Stromal Cells In. *Am. J. Pathol.* **2010**, *176*, 968–980, doi:10.2353/ajpath.2010.090299.
 317. Shan, Q.; Takabatake, K.; Omori, H.; Kawai, H.; Oo, M.W.; Sukegawa, S.; Fujii, M.; Inada, Y.; Sano, S.; Nakano, K.; et al. Investigation of Bone Invasion and Underlying Mechanisms of Oral Cancer Using a Cell Line-Derived Xenograft Model. *Oncol. Lett.* **2022**, *24*, 382, doi:10.3892/ol.2022.13502.
 318. Ramasubramanian, S.; Pandiar, D.; Krishnan, R.P.; Ramalingam, K. Correlation of Bony Invasion With Nodal Metastasis , Pattern of Invasion and Survival in Oral Squamous Cell Carcinoma : A Retrospective Analysis of 122 Primary Cases From Oral Cancer Centre of South India. **2023**, *15*, doi:10.7759/cureus.42887.

319. Overholt, S.M.; Eicher, S.A.; Wolf, P.; Weber, R.S. Prognostic Factors Affecting Outcome in Lower Gingival Carcinoma. *Laryngoscope* **1996**, *106*, 1335–1339, doi:<https://doi.org/10.1097/00005537-199611000-00006>.
320. Elmusrati, A.; Wang, J.; Wang, C.-Y. Tumor Microenvironment and Immune Evasion in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Int. J. Oral Sci.* **2021**, *13*, 24, doi:[10.1038/s41368-021-00131-7](https://doi.org/10.1038/s41368-021-00131-7).
321. Borovski, T.; De Sousa E Melo, F.; Vermeulen, L.; Medema, J.P. Cancer Stem Cell Niche: The Place to Be. *Cancer Res.* **2011**, *71*, 634–639, doi:[10.1158/0008-5472.CAN-10-3220](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-3220).
322. Morrison, S.J.; Spradling, A.C. Stem Cells and Niches: Mechanisms That Promote Stem Cell Maintenance throughout Life. *Cell* **2008**, *132*, 598–611, doi:[10.1016/j.cell.2008.01.038](https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.038).
323. Taddei, M.L.; Giannoni, E.; Fiaschi, T.; Chiarugi, P. Anoikis: An Emerging Hallmark in Health and Diseases. *J. Pathol.* **2012**, *226*, 380–393, doi:<https://doi.org/10.1002/path.3000>.
324. Neiva, K.G.; Zhang, Z.; Miyazawa, M.; Warner, K.A.; Karl, E.; Nör, J.E. Cross Talk Initiated by Endothelial Cells Enhances Migration and Inhibits Anoikis of Squamous Cell Carcinoma Cells through STAT3/Akt/ERK Signaling. *Neoplasia* **2009**, *11*, 583–IN14, doi:<https://doi.org/10.1593/neo.09266>.
325. Chen, S.M.Y.; Krinsky, A.L.; Woolaver, R.A.; Wang, X.; Chen, Z.; Wang, J.H. Tumor Immune Microenvironment in Head and Neck Cancers. *Mol. Carcinog.* **2020**, *59*, 766–774, doi:<https://doi.org/10.1002/mc.23162>.
326. Conley, S.J.; Gheordunescu, E.; Kakarala, P.; Newman, B.; Korkaya, H.; Heath, A.N.; Clouthier, S.G.; Wicha, M.S. Antiangiogenic Agents Increase Breast Cancer Stem Cells via the Generation of Tumor Hypoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109*, 2784–2789, doi:[10.1073/pnas.1018866109](https://doi.org/10.1073/pnas.1018866109).
327. Krishnamurthy, S.; Dong, Z.; Vodopyanov, D.; Imai, A.; Helman, J.I.; Prince, M.E.; Wicha, M.S.; Nör, J.E. Endothelial Cell-Initiated Signaling Promotes the Survival and Self-Renewal of Cancer Stem Cells. *Cancer Res.* **2010**, *70*, 9969–9978, doi:[10.1158/0008-5472.CAN-10-1712](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1712).
328. Bowles, D.W.; Keysar, S.B.; Eagles, J.R.; Wang, G.; Glogowska, M.J.; McDermott, J.D.; Le, P.N.; Gao, D.; Ray, C.E.; Rochon, P.J.; et al. A Pilot Study of Cetuximab and the Hedgehog Inhibitor IPI-926 in Recurrent/Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Oral Oncol.* **2016**, *53*, 74–79, doi:[10.1016/j.oraloncology.2015.11.014](https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2015.11.014).
329. Ayres-Sander, C.E.; Lauridsen, H.; Maier, C.L.; Sava, P.; Pober, J.S.; Gonzalez, A.L. Transendothelial Migration Enables Subsequent Transmigration of Neutrophils through Underlying Pericytes. *PLoS One* **2013**, *8*, 1–12, doi:[10.1371/journal.pone.0060025](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060025).
330. Crisan, M.; Yap, S.; Casteilla, L.; Chen, C.-W.; Corselli, M.; Park, T.S.; Andriolo, G.; Sun, B.; Zheng, B.; Zhang, L.; et al. A Perivascular Origin for Mesenchymal Stem Cells in Multiple Human Organs. *Cell Stem Cell* **2008**, *3*, 301–313, doi:[10.1016/j.stem.2008.07.003](https://doi.org/10.1016/j.stem.2008.07.003).

331. Armulik, A.; Genové, G.; Betsholtz, C. Pericytes: Developmental, Physiological, and Pathological Perspectives, Problems, and Promises. *Dev. Cell* **2011**, *21*, 193–215, doi:10.1016/j.devcel.2011.07.001.
332. Raza, A.; Franklin, M.J.; Dudek, A.Z. Pericytes and Vessel Maturation during Tumor Angiogenesis and Metastasis. *Am. J. Hematol.* **2010**, *85*, 593–598, doi:https://doi.org/10.1002/ajh.21745.
333. Hosaka, K.; Yang, Y.; Seki, T.; Fischer, C.; Dubey, O.; Fredlund, E.; Hartman, J.; Religa, P.; Morikawa, H.; Ishii, Y.; et al. Pericyte–Fibroblast Transition Promotes Tumor Growth and Metastasis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2016**, *113*, E5618–E5627, doi:10.1073/pnas.1608384113.
334. Morikawa, S.; Baluk, P.; Kaidoh, T.; Haskell, A.; Jain, R.K.; McDonald, D.M. Abnormalities in Pericytes on Blood Vessels and Endothelial Sprouts in Tumors. *Am. J. Pathol.* **2002**, *160*, 985–1000, doi:10.1016/S0002-9440(10)64920-6.
335. ANNEROTH, G.; BATSAKIS, J.; LUNA, M. Review of the Literature and a Recommended System of Malignancy Grading in Oral Squamous Cell Carcinomas. *Eur. J. Oral Sci.* **1987**, *95*, 229–249, doi:https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1987.tb01836.x.
336. Anneroth, G.; Hansen, L.S. A Methodologic Study of Histologic Classification and Grading of Malignancy in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Scand. J. Dent. Res.* **1984**, *92*, 448–468, doi:10.1111/j.1600-0722.1984.tb00915.x.
337. Akhter, M.; Hossain, S.; Rahman, Q.B.; Molla, M.R. A Study on Histological Grading of Oral Squamous Cell Carcinoma and Its Co-Relationship with Regional Metastasis. **2011**, *15*, 168–176, doi:10.4103/0973-029X.84485.
338. Low, T.H.H.; Gao, K.; Gupta, R.; Clifford, A.; Elliott, M.; Ch'ng, S.; Milross, C.; Clark, J.R. Factors Predicting Poor Outcomes in T1N0 Oral Squamous Cell Carcinoma: Indicators for Treatment Intensification. *ANZ J. Surg.* **2016**, *86*, 366–371, doi:10.1111/ANS.13504.
339. Loeffelbein, D.J.; Eiber, M.; Mayr, P.; Souvatzoglou, M.; Mücke, T.; von Bomhard, A.; Kesting, M.R.; Wolff, K.-D. Loco-Regional Recurrence after Surgical Treatment of Oral Squamous Cell Carcinoma: Proposals for Follow-up Imaging Based on Literature, National Guidelines and Institutional Experience. *J. Cranio-Maxillo-Facial Surg.* **2017**, *43*, 1546–1552, doi:10.1016/j.jcms.2015.06.020.
340. Ravasz, L.A.; Slootweg, P.J.; Hordijk, G.J.; Smit, F.; van der Tweel, I. The Status of the Resection Margin as a Prognostic Factor in the Treatment of Head and Neck Carcinoma. *J. Cranio-Maxillo-Facial Surg.* **2017**, *19*, 314–318, doi:10.1016/S1010-5182(05)80339-7.
341. Wong, L.S.; McMahan, J.; Devine, J.; McLellan, D.; Thompson, E.; Farrow, A.; Moos, K.; Ayoub, A. Influence of Close Resection Margins on Local Recurrence and Disease-Specific Survival in Oral and Oropharyngeal Carcinoma. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2012**, *50*, 102–108, doi:10.1016/j.bjoms.2011.05.008.
342. Woolgar, J.A.; Rogers, S.; West, C.R.; Errington, R.D.; Brown, J.S.; Vaughan, E.D. Survival and Patterns of Recurrence in 200 Oral Cancer Patients Treated by Radical Surgery and Neck Dissection. *Oral Oncol.* **1999**, *35*, 257–265.

343. Jerjes, W.; Upile, T.; Petrie, A.; Riskalla, A.; Hamdoon, Z.; Vourvachis, M.; Karavidas, K.; Jay, A.; Sandison, A.; Thomas, G.J.; et al. Clinicopathological Parameters, Recurrence, Locoregional and Distant Metastasis in 115 T1-T2 Oral Squamous Cell Carcinoma Patients. *Head Neck Oncol.* **2010**, *2*, 9, doi:10.1186/1758-3284-2-9.
344. Popovic-Monevska, D.; Naumovski, S.; Popovski, V.; Benedetti, A.; Bozovic, S.; Iliev, A. O.490 Loco Regional Recurrence of OSCC. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* **2008**, *36*, S123, doi:10.1016/S1010-5182(08)71614-7.
345. Alaeddini, M.; Etemad-Moghadam, S. Comparison of the Histologic Risk Assessment Model between Lower Lip and Oral Squamous Cell Carcinoma. *J. Stomatol. Oral Maxillofac. Surg.* **2017**, doi:10.1016/j.jormas.2017.11.005.
346. Tasche, K.K.; Buchakjian, M.R.; Pagedar, N.A.; Sperry, S.M. Definition of “Close Margin” in Oral Cancer Surgery and Association of Margin Distance With Local Recurrence Rate Supplemental Content. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* **2017**, *143*, 1166–1172, doi:10.1001/jamaoto.2017.0548.
347. Park, H. Surgical Margins for the Extirpation of Oral Cancer. *J. Korean Assoc. Oral Maxillofac. Surg.* **2016**, *42*, 325–326, doi:10.5125/jkaoms.2016.42.6.325.
348. Low, T.H.; Gao, K.; Elliott, M.; Clark, J.R. Tumor Classification for Early Oral Cancer: Re-Evaluate the Current TNM Classification. *Head Neck* **2015**, *37*, 223–228, doi:10.1002/HED.23581.
349. Hinni, M.L.; Ferlito, A.; Brandwein-Gensler, M.S.; Takes, R.P.; Silver, C.E.; Westra, W.H.; Seethala, R.R.; Rodrigo, J.P.; Corry, J.; Bradford, C.R.; et al. Surgical Margins in Head and Neck Cancer: A Contemporary Review. *Head Neck* **2013**, *35*, 1362–1370, doi:10.1002/HED.23110.
350. Brinkman, D.; Callanan, D.; O’Shea, R.; Jawad, H.; Feeley, L.; Sheahan, P. Impact of 3 Mm Margin on Risk of Recurrence and Survival in Oral Cancer. *Oral Oncol.* **2020**, *110*, 104883, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2020.104883.
351. Kang, C.-J.; Wen, Y.-W.; Lee, S.-R.; Lee, L.-Y.; Hsueh, C.; Lin, C.-Y.; Fan, K.-H.; Wang, H.-M.; Hsieh, C.-H.; Ng, S.-H.; et al. Surgical Margins Status and Prognosis after Resection of Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: Results from a Taiwanese Nationwide Registry-Based Study. *Cancers (Basel)*. **2021**, *14*, doi:10.3390/cancers14010015.
352. Brandwein-Gensler, M.; Teixeira, M.S.; Lewis, C.M.; Lee, B.; Rolnitzky, L.; Hille, J.J.; Genden, E.; Urken, M.L.; Wang, B.Y. Oral Squamous Cell Carcinoma: Histologic Risk Assessment, but Not Margin Status, Is Strongly Predictive of Local Disease-Free and Overall Survival. *Am. J. Surg. Pathol.* **2005**, *29*, 167–178, doi:10.1097/01.pas.0000149687.90710.21.
353. Hurník, P.; Režnarová, J.; Chyra, Z.; Motyka, O.; Putnová, B.M.; Čermáková, Z.; Blažek, T.; Fománek, M.; Gaykalova, D.; Buchtová, M.; et al. Enhancing Oral Squamous Cell Carcinoma Prediction: The Prognostic Power of the Worst Pattern of Invasion and the Limited Impact of Molecular Resection Margins. *Front. Oncol.* **2023**, *13*, 1287650, doi:10.3389/fonc.2023.1287650.
354. Almangush, A.; Bello, I.O.; Coletta, R.D.; Mäkitie, A.A.; Mäkinen, L.K.; Kauppila,

- J.H.; Pukkila, M.; Hagström, J.; Laranne, J.; Soini, Y.; et al. For Early-Stage Oral Tongue Cancer, Depth of Invasion and Worst Pattern of Invasion Are the Strongest Pathological Predictors for Locoregional Recurrence and Mortality. *Virchows Arch.* **2015**, *467*, 39–46, doi:10.1007/s00428-015-1758-z.
355. Chaturvedi, A.; Husain, N.; Misra, S.; Kumar, V.; Gupta, S.; Akhtar, N.; Lakshmanan, M.; Garg, S.; Arora, A.; Jain, K. Validation of the Brandwein Gensler Risk Model in Patients of Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma in North India. *Head Neck Pathol.* **2020**, *14*, 616–622, doi:10.1007/s12105-019-01082-6.
356. Tan, A.; Taskin, T. Tumor Budding Should Be in Oral Cavity Cancer Reporting: A Retrospective Cohort Study Based on Tumor Microenvironment. *Cancers (Basel).* **2023**, *15*, doi:10.3390/cancers15153905.
357. Mishra, A.; Das, A.; Dhal, I.; Shankar, R.; Bhavya, B.M.; Singh, N.; Tripathi, P.; Daga, D.; Rai, A.; Gupta, M.; et al. Worst Pattern of Invasion in Oral Squamous Cell Carcinoma Is an Independent Prognostic Factor. *J. Oral Biol. Craniofacial Res.* **2022**, *12*, 771–776, doi:10.1016/j.jobcr.2022.08.027.
358. Li, J.; He, Z.; Tao, Y.; Yang, X.; Ge, S.; Xu, H.; Shang, W.; Song, K. Efficacy and Safety of Pembrolizumab Monotherapy for Recurrent/Unresectable/Metastatic Oral Squamous Cell Carcinoma: A Single-Center Study in China. *J. Oncol.* **2022**, *2022*, 7283946, doi:10.1155/2022/7283946.
359. Zhu, J.; Xu, T.; Song, D.-H.; Wu, S.-B. [Study on the correlation between combined detection of RACK1 and M2/M1 in oral squamous cell carcinoma and prognosis of the patients]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* **2022**, *31*, 517–522.
360. Zhou, Z.; Wei, B.; Liu, Y.; Liu, T.; Zeng, S.; Gan, J.; Qi, G. Depletion of PARP10 Inhibits the Growth and Metastatic Potential of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Front. Genet.* **2022**, *13*, 1035638, doi:10.3389/fgene.2022.1035638.
361. Zhou, Y.; Tang, Y.; Luo, J.; Yang, Y.; Zang, H.; Ma, J.; Fan, S.; Wen, Q. High Expression of HSP60 and Survivin Predicts Poor Prognosis for Oral Squamous Cell Carcinoma Patients. *BMC Oral Health* **2023**, *23*, 629, doi:10.1186/s12903-023-03311-5.
362. Zheng, Y.; Fei, H. High Expression of E2F4 Is an Adverse Prognostic Factor and Related to Immune Infiltration in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Biomed Res. Int.* **2022**, *2022*, doi:10.1155/2022/4731364.
363. Zhang, X.-Y.; Xie, S.; Wang, D.-C.; Shan, X.-F.; Cai, Z.-G. Prognosis and Nomogram Prediction for Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma: A Cohort Study. *Diagnostics (Basel, Switzerland)* **2023**, *13*, doi:10.3390/diagnostics13101768.
364. Zhang, L.; Wang, M.; Ren, W.; Li, S.; Zhi, K.; Gao, L.; Zheng, J. Prognostic Significance of CircRNAs Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Oral Dis.* **2023**, *29*, 1439–1453, doi:10.1111/odi.14188.
365. Ferreira, A.-K.; Carvalho, S.-H.; Granville-Garcia, A.-F.; Sarmiento, D.-J.; Agripino, G.-G.; Abreu, M.-H.; Melo, M.-C.; Caldas, A.-D.J.; Godoy, G.-P. Survival and Prognostic Factors in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* **2021**, *26*, e387–e392, doi:10.4317/medoral.24242.

366. Mneimneh, W.S.; Xu, B.; Ghossein, C.; Alzumaili, B.; Sethi, S.; Ganly, I.; Khimraj, A.; Dogan, S.; Katabi, N. Clinicopathologic Characteristics of Young Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma. *Head Neck Pathol.* **2021**, *15*, 1099–1108, doi:10.1007/s12105-021-01320-w.
367. Mohideen, K.; Krithika, C.; Jeddy, N.; Balakrishnan, T.; Bharathi, R.; Sankari, S.L. A Meta-Analysis of Oral Squamous Cell Carcinoma in Young Adults with a Comparison to the Older Group Patients (2014-2019). *Contemp. Clin. Dent.* **2021**, *12*, 213–221, doi:10.4103/ccd.ccd_466_20.
368. Silva, P.-G.B.; Lemos, J.-V.-M.; Borges, M.-M.-F.; do Rêgo, T.-J.-R.; Dantas, T.-S.; Leite, C.-H.-B.; Lima, M.-V.-A.; Cunha, M.P.-S.-S.; Sousa, F.-B. Prognostic Factors on Surgically and Non-Surgically Treated Oral Squamous Cell Carcinoma: Advances in Survival in Fifteen Years of Follow Up. *J. Clin. Exp. Dent.* **2021**, *13*, e240–e249, doi:10.4317/jced.57477.
369. Chang, W.-C.; Yang, C.-Y.; Lin, C.-S.; Lin, C.-K.; Chen, Y.-W. Pretreatment Body Mass Index as a Prognostic Predictor in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma. *Clin. Oral Investig.* **2020**, *24*, 2781–2788, doi:10.1007/s00784-019-03141-2.
370. Wang, C.; Pan, Y.; Xu, Q.; Li, B.; Kim, K.; Mao, M.; Li, J.; Qin, L.; Li, H.; Han, Z.; et al. Relationship between Body Mass Index and Outcomes for Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma. *Oral Dis.* **2019**, *25*, 87–96, doi:10.1111/odi.12963.
371. Rühle, A.; Grosu, A.-L.; Nicolay, N.H. De-Escalation Strategies of (Chemo)Radiation for Head-and-Neck Squamous Cell Cancers-HPV and Beyond. *Cancers (Basel).* **2021**, *13*, doi:10.3390/cancers13092204.
372. Zumsteg, Z.S.; Luu, M.; Kim, S.; Tighiouart, M.; Mita, A.; Scher, K.S.; Lu, D.J.; Shiao, S.L.; Mallen-St. Clair, J.; Ho, A.S. Quantitative Lymph Node Burden as a ‘Very-High-Risk’ Factor Identifying Head and Neck Cancer Patients Benefiting from Postoperative Chemoradiation. *Ann. Oncol.* **2019**, *30*, 76–84, doi:https://doi.org/10.1093/annonc/mdy490.
373. Habib, M.; Murgasen, J.; Gao, K.; Ashford, B.; Shannon, K.; Ebrahimi, A.; Clark, J.R. Contralateral Neck Failure in Lateralized Oral Squamous Cell Carcinoma. *ANZ J. Surg.* **2016**, *86*, 188–192, doi:https://doi.org/10.1111/ans.13206.
374. Metcalfe, E.; Aspin, L.; Speight, R.; Ermiş, E.; Ramasamy, S.; Cardale, K.; Dyker, K.E.; Sen, M.; Prestwich, R.J.D. Postoperative (Chemo)Radiotherapy for Oral Cavity Squamous Cell Carcinomas: Outcomes and Patterns of Failure. *Clin. Oncol.* **2017**, *29*, 51–59, doi:https://doi.org/10.1016/j.clon.2016.09.008.
375. Ang, K.K.; Trotti, A.; Brown, B.W.; Garden, A.S.; Foote, R.L.; Morrison, W.H.; Geara, F.B.; Klotch, D.W.; Goepfert, H.; Peters, L.J. Randomized Trial Addressing Risk Features and Time Factors of Surgery plus Radiotherapy in Advanced Head-and-Neck Cancer. *Int. J. Radiat. Oncol.* **2001**, *51*, 571–578, doi:https://doi.org/10.1016/S0360-3016(01)01690-X.
376. Huang, J.; Barbera, L.; Brouwers, M.; Browman, G.; Mackillop, W.J. Does Delay in Starting Treatment Affect the Outcomes of Radiotherapy? A Systematic Review. *J. Clin. Oncol.* **2003**, *21*, 555 – 563, doi:10.1200/JCO.2003.04.171.

377. Bernier, J.; Cooper, J.S.; Pajak, T.F.; Van Glabbeke, M.; Bourhis, J.; Forastiere, A.; Ozsahin, E.M.; Jacobs, J.R.; Jassem, J.; Ang, K.-K.; et al. Defining Risk Levels in Locally Advanced Head and Neck Cancers: A Comparative Analysis of Concurrent Postoperative Radiation plus Chemotherapy Trials of the EORTC (#22931) and RTOG (#9501). *Head Neck* **2005**, *27*, 843 – 850, doi:10.1002/hed.20279.
378. Szturz, P.; Wouters, K.; Kiyota, N.; Tahara, M.; Prabhash, K.; Noronha, V.; Castro, A.; Licitra, L.; Adelstein, D.; Vermorcken, J.B. Weekly Low-Dose versus Three-Weekly High-Dose Cisplatin for Concurrent Chemoradiation in Locoregionally Advanced Non- Nasopharyngeal Head and Neck Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Aggregate Data. *Oncologist* **2017**, *22*, 1056 – 1066, doi:10.1634/theoncologist.2017-0015.
379. Noronha, V.; Joshi, A.; Patil, V.M.; Agarwal, J.; Ghosh-Laskar, S.; Budrukkar, A.; Murthy, V.; Gupta, T.; D’Cruz, A.K.; Banavali, S.; et al. Once-a-Week versus Once-Every-3-Weeks Cisplatin Chemoradiation for Locally Advanced Head and Neck Cancer: A Phase III Randomized Noninferiority Trial. *J. Clin. Oncol.* **2018**, *36*, 1064 – 1072, doi:10.1200/JCO.2017.74.9457.
380. Huang, S.H.; Hahn, E.; Chiosea, S.I.; Xu, Z.-Y.; Li, J.-S.; Shen, L.; O’Sullivan, B. The Role of Adjuvant (Chemo-)Radiotherapy in Oral Cancers in the Contemporary Era. *Oral Oncol.* **2020**, *102*, 104563, doi:https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.104563.
381. Johnson, D.E.; Burtneess, B.; Leemans, C.R.; Lui, V.W.Y.; Bauman, J.E.; Grandis, J.R. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **2020**, *6*, 92, doi:10.1038/S41572-020-00224-3.
382. Allen, C.; Her, S.; Jaffray, D.A. Radiotherapy for Cancer: Present and Future. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2017**, *109*, 1–2, doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.01.004.
383. Lapeyre, M.; Racadot, S.; Renard, S.; Biau, J.; Moreira, J.F.; Biston, M.C.; Pointreau, Y.; Thariat, J.; Graff-Cailleaud, P. Radiotherapy for Oral Cavity Cancers. *Cancer/Radiothérapie* **2022**, *26*, 189–198, doi:https://doi.org/10.1016/j.canrad.2021.11.012.
384. Bortfeld, T. IMRT: A Review and Preview. *Phys. Med. Biol.* **2006**, *51*, R363, doi:10.1088/0031-9155/51/13/R21.
385. Antolak, J.A.; Rosen, I.I. Planning Target Volumes for Radiotherapy: How Much Margin Is Needed? *Int. J. Radiat. Oncol.* **1999**, *44*, 1165–1170, doi:https://doi.org/10.1016/S0360-3016(99)00117-0.
386. Mazon, J.-J.; Ardiet, J.-M.; Haie-Méder, C.; Kovács, G.; Levendag, P.; Peiffert, D.; Polo, A.; Rovirosa, A.; Strnad, V. GEC-ESTRO Recommendations for Brachytherapy for Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. *Radiother. Oncol. J. Eur. Soc. Ther. Radiol. Oncol.* **2009**, *91*, 150–156, doi:10.1016/j.radonc.2009.01.005.
387. Cox, J.D.; Stetz, J.A.; Pajak, T.F. Toxicity Criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **1995**, *31*, 1341–1346, doi:10.1016/0360-3016(95)00060-C.

388. Florea, A.M.; Büsselberg, D. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects. *Cancers (Basel)*. **2011**, *3*, 1351–1371, doi:10.3390/cancers3011351.
389. Ghosh, S. Cisplatin: The First Metal Based Anticancer Drug. *Bioorg. Chem.* **2019**, *88*, 102925, doi:https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925.
390. Sheth, S.; Mukherjea, D.; Rybak, L.P.; Ramkumar, V. Mechanisms of Cisplatin-Induced Ototoxicity and Otoprotection. *Front. Cell. Neurosci.* **2017**, *11*, 338.
391. Tsang, R.Y.; Al-Fayea, T.; Au, H.-J. Cisplatin Overdose. *Drug Saf.* **2009**, *32*, 1109–1122, doi:10.2165/11316640-000000000-00000.
392. McKeage, M.J. Comparative Adverse Effect Profiles of Platinum Drugs. *Drug Saf.* **1995**, *13*, 228–244, doi:10.2165/00002018-199513040-00003.
393. Cvitkovic, E. Cumulative Toxicities from Cisplatin Therapy and Current Cytoprotective Measures. *Cancer Treat. Rev.* **1998**, *24*, 265–281.
394. Skinner, R. Strategies to Prevent Nephrotoxicity of Anticancer Drugs. *Curr. Opin. Oncol.* **1995**, *7*, 310–315.
395. Wagstaff, A.J.; Ward, A.; Benfield, P.; Heel, R.C. Carboplatin. A Preliminary Review of Its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy in the Treatment of Cancer. *Drugs* **1989**, *37*, 162–190, doi:10.2165/00003495-198937020-00005.
396. Grau, J.J.; Caballero, M.; Verger, E.; Monzó, M.; Blanch, J.L. Weekly Paclitaxel for Platin-Resistant Stage IV Head and Neck Cancer Patients. *Acta Otolaryngol.* **2009**, *129*, 1294–1299, doi:10.3109/00016480802590451.
397. Kashyap, L.; Patil, V.; Noronha, V.; Joshi, A.; Menon, N.; Jobanputra, K.; Saha, S.; Chaturvedi, P.; Banavali, S.D.; Prabhash, K. Efficacy and Safety of Neoadjuvant Chemotherapy (NACT) with Paclitaxel plus Carboplatin and Oral Metronomic Chemotherapy (OMCT) in Patients with Technically Unresectable Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC). *Ecancermedicalscience* **2021**, *15*, 1325, doi:10.3332/ecancer.2021.1325.
398. Riou, J.F.; Naudin, A.; Lavelle, F. Effects of Taxotere on Murine and Human Tumor Cell Lines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, *187*, 164–170, doi:10.1016/s0006-291x(05)81474-3.
399. Hanauske, A.R.; Degen, D.; Hilsenbeck, S.G.; Bissery, M.C.; Von Hoff, D.D. Effects of Taxotere and Taxol on in Vitro Colony Formation of Freshly Explanted Human Tumor Cells. *Anticancer. Drugs* **1992**, *3*, 121–124, doi:10.1097/00001813-199204000-00008.
400. Lavelle, F.; Bissery, M.C.; Combeau, C.; Riou, J.F.; Vrignaud, P.; André, S. Preclinical Evaluation of Docetaxel (Taxotere). *Semin. Oncol.* **1995**, *22*, 3–16.
401. Tamatani, T.; Ferdous, T.; Takamaru, N.; Hara, K.; Kinouchi, M.; Kuribayashi, N.; Ohe, G.; Uchida, D.; Nagai, H.; Fujisawa, K.; et al. Antitumor Efficacy of Sequential Treatment with Docetaxel and 5-Fluorouracil against Human Oral Cancer Cells. *Int J Oncol* **2012**, *41*, 1148–1156, doi:10.3892/ijo.2012.1544.

402. Giannola, L.I.; De Caro, V.; Giandalia, G.; Siragusa, M.G.; Paderni, C.; Campisi, G.; Florena, A.M. 5-Fluorouracil Buccal Tablets for Locoregional Chemotherapy of Oral Squamous Cell Carcinoma: Formulation, Drug Release and Histological Effects on Reconstituted Human Oral Epithelium and Porcine Buccal Mucosa. *Curr. Drug Deliv.* **2010**, *7*, 109–117, doi:10.2174/156720110791011792.
403. Martínková, J.; Hroch, M.; Grim, J. Poznámky k Inovacím v Cytostatické Terapii 5-Fluorouracilem. **2011**, *25*, 87–91.
404. Wu, C.-F.; Lee, C.-H.; Hsi, E.; Chen, C.-H.; Tang, J.-Y. Interval between Intra-Arterial Infusion Chemotherapy and Surgery for Locally Advanced Oral Squamous Cell Carcinoma: Impacts on Effectiveness of Chemotherapy and on Overall Survival. *ScientificWorldJournal.* **2014**, *2014*, 568145, doi:10.1155/2014/568145.
405. Kamal, M.V.; Rao, M.; Damerla, R.R.; Pai, A.; Sharan, K.; Palod, A.; Shetty, P.S.; Usman, N.; Kumar, N.A.N. A Mechanistic Review of Methotrexate and Celecoxib as a Potential Metronomic Chemotherapy for Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Invest.* **2023**, *41*, 144–154, doi:10.1080/07357907.2022.2139840.
406. Abbott, M.; Ustoyev, Y. Cancer and the Immune System: The History and Background of Immunotherapy. *Semin. Oncol. Nurs.* **2019**, *35*, 150923, doi:https://doi.org/10.1016/j.soncn.2019.08.002.
407. Nordfors, C.; Grün, N.; Tertipis, N.; Ährlund-Richter, A.; Haegglblom, L.; Sivars, L.; Du, J.; Nyberg, T.; Marklund, L.; Munck-Wikland, E.; et al. CD8⁺ and CD4⁺ Tumour Infiltrating Lymphocytes in Relation to Human Papillomavirus Status and Clinical Outcome in Tonsillar and Base of Tongue Squamous Cell Carcinoma. *Eur. J. Cancer* **2013**, *49*, 2522–2530, doi:10.1016/j.ejca.2013.03.019.
408. Dai, W.; Li, Y.; Zhou, Q.; Xu, Z.; Sun, C.; Tan, X.; Lu, L. Cetuximab Inhibits Oral Squamous Cell Carcinoma Invasion and Metastasis via Degradation of Epidermal Growth Factor Receptor. *J. oral Pathol. Med. Off. Publ. Int. Assoc. Oral Pathol. Am. Acad. Oral Pathol.* **2014**, *43*, 250–257, doi:10.1111/jop.12116.
409. Naruse, T.; Yanamoto, S.; Matsushita, Y.; Sakamoto, Y.; Morishita, K.; Ohba, S.; Shiraishi, T.; Yamada, S.-I.; Asahina, I.; Umeda, M. Cetuximab for the Treatment of Locally Advanced and Recurrent/Metastatic Oral Cancer: An Investigation of Distant Metastasis. *Mol. Clin. Oncol.* **2016**, *5*, 246–252, doi:10.3892/mco.2016.928.
410. Ling, W.; Mijiti, A.; Moming, A. Survival Pattern and Prognostic Factors of Patients With Squamous Cell Carcinoma of the Tongue: A Retrospective Analysis of 210 Cases. *J. Oral Maxillofac. Surg.* **2013**, *71*, 775–785, doi:https://doi.org/10.1016/j.joms.2012.09.026.
411. Canis, M.; Weiss, B.G.; Ihler, F.; Hummers-Pradier, E.; Matthias, C.; Wolff, H.A. Quality of Life in Patients after Resection of PT3 Lateral Tongue Carcinoma: Microvascular Reconstruction versus Primary Closure. *Head & Neck* **2016**, *38*, 89–94, doi:https://doi.org/10.1002/hed.23862.
412. Omura, K. Current Status of Oral Cancer Treatment Strategies: Surgical Treatments for Oral Squamous Cell Carcinoma. *Int. J. Clin. Oncol.* **2014**, *19*, 423–430, doi:10.1007/s10147-014-0689-z.
413. Yang, X.-D.; Zhao, S.-F.; Zhang, Q.; Wang, Y.-X.; Li, W.; Hong, X.-W.; Hu, Q.-G.

Use of Modified Lateral Upper Arm Free Flap for Reconstruction of Soft Tissue Defect after Resection of Oral Cancer. *Head Face Med.* **2016**, *12*, 1–7.

414. Ragbir, M.; Brown, J.S.; Mehanna, H. Reconstructive Considerations in Head and Neck Surgical Oncology: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. *J. Laryngol. Otol.* **2016**, *130*, S191 – S197, doi:10.1017/s0022215116000621.
415. Garg Manish; Singhavi, Hitesh; Bhati, Muddasir; Malik, Akshat; Mishra, Aseem; Nair, Deepa; Nair, Sudhir; Chaturvedi, Pankaj, A.M. Adequacy of Surgical Margins in Oral Cancer Patients with Respect to Various Types of Reconstruction. *South Asian J Cancer* **2020**, *09*, 34–37, doi:10.4103/sajc.sajc_366_18.
416. Kansy, K.; Mueller, A.A.; Mücke, T.; Koersgen, F.; Wolff, K.D.; Zeilhofer, H.-F.; Hölzle, F.; Pradel, W.; Schneider, M.; Kolk, A.; et al. A Worldwide Comparison of the Management of Surgical Treatment of Advanced Oral Cancer. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* **2018**, *46*, 511–520, doi:https://doi.org/10.1016/j.jcms.2017.12.031.
417. Kansy, K.; Mueller, A.A.; Mücke, T.; Koersgen, F.; Wolff, K.D.; Zeilhofer, H.-F.; Hölzle, F.; Pradel, W.; Schneider, M.; Kolk, A.; et al. A Worldwide Comparison of the Management of T1 and T2 Anterior Floor of the Mouth and Tongue Squamous Cell Carcinoma - Extent of Surgical Resection and Reconstructive Measures. *J. cranio-maxillo-facial Surg. Off. Publ. Eur. Assoc. Cranio-Maxillo-Facial Surg.* **2017**, *45*, 2097–2104, doi:10.1016/j.jcms.2017.09.012.
418. Koerdt, S.; Röckl, J.; Rommel, N.; Mücke, T.; Wolff, K.-D.; Kesting, M.R. Lymph Node Management in the Treatment of Oral Cancer: Analysis of a Standardized Approach. *J. Cranio-Maxillo-Facial Surg.* **2017**, *44*, 1737–1742, doi:10.1016/j.jcms.2016.08.002.
419. Wolff, K.D.; Rau, A.; Ferencz, J.; Langer, T.; Kesting, M.; Nieberler, M.; Wesselmann, S. Effect of an Evidence-Based Guideline on the Treatment of Maxillofacial Cancer: A Prospective Analysis. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* **2017**, *45*, 427–431, doi:10.1016/j.jcms.2016.12.013.
420. Low, T.H.H.; Lindsay, A.; Clark, J.; Chai, F.; Lewis, R. Reconstruction of Maxillary Defect with Musculo-Adipose Rectus Free Flap. *Microsurgery* **2017**, *37*, 137–141, doi:10.1002/MICR.22439.
421. Poh, C.F.; Anderson, D.W.; Scott Durham, J.; Chen, J.; Berean, K.W.; MacAulay, C.E.; Rosin, M.P. Fluorescence Visualization-Guided Surgery for Early-Stage Oral Cancer. *JAMA Otolaryngol. - Head Neck Surg.* **2016**, *142*, 209–216, doi:10.1001/jamaoto.2015.3211.
422. Lima, I.F.P.; Brand, L.M.; de Figueiredo, J.A.P.; Steier, L.; Lamers, M.L. Use of Autofluorescence and Fluorescent Probes as a Potential Diagnostic Tool for Oral Cancer: A Systematic Review. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2021**, *33*, doi:10.1016/J.PDPDT.2020.102073.
423. Sun, L.F.; Wang, C.X.; Cao, Z.Y.; Han, W.; Guo, S.S.; Wang, Y.Z.; Meng, Y.; Hou, C.X.; Zhu, Q.H.; Tang, Y.T.; et al. Evaluation of Autofluorescence Visualization System in the Delineation of Oral Squamous Cell Carcinoma Surgical Margins. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2021**, *36*, doi:10.1016/J.PDPDT.2021.102487.

424. Durham, J.S.; Brasher, P.; Anderson, D.W.; Yoo, J.; Hart, R.; Dort, J.C.; Seikaly, H.; Kerr, P.; Rosin, M.P.; Poh, C.F. Effect of Fluorescence Visualization-Guided Surgery on Local Recurrence of Oral Squamous Cell Carcinoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.* **2020**, *146*, 1149–1155, doi:10.1001/JAMAOTO.2020.3147.
425. Wolff, K.-D.; Rau, A.; Ferencz, J.; Langer, T.; Kesting, M.; Nieberler, M.; Wesselmann, S. Effect of an Evidence-Based Guideline on the Treatment of Maxillofacial Cancer: A Prospective Analysis. *J. Cranio-Maxillo-Facial Surg.* **2017**, *45*, 427–431, doi:10.1016/j.jcms.2016.12.013.
426. Popovic-Monevska, D.; Naumovski, S.; Popovski, V.; Benedetti, A.; Bozovic, S.; Iliev, A. O.490 Loco Regional Recurrence of OSCC. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* **2008**, *36*, S123, doi:10.1016/s1010-5182(08)71614-7.
427. Bschorer, M.; Schneider, D.; Goppold, K.; Sperling, J.; Schön, G.; Bschorer, R. Quality of Life and Survival Rate after Primary Surgical Treatment of Oral Squamous Cell Carcinoma: A Retrospective Study with 18 Years of Follow-Up. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* **2022**, *50*, 170–177, doi:10.1016/J.JCMS.2021.09.016.
428. de Vicente, J.C.; Rúa-González, L.; Barroso, J.M.; Fernández del Valle-Fernández, Á.; de Villalaín, L.; Peña, I.; Cobo, J.L. Functional Results of Swallowing and Aspiration after Oral Cancer Treatment and Microvascular Free Flap Reconstruction: A Retrospective Observational Assessment. *J. Craniomaxillofac. Surg.* **2021**, *49*, 959–970, doi:10.1016/J.JCMS.2021.04.015.
429. Meier, J.D.; Oliver, D.A.; Varvares, M.A. Surgical Margin Determination in Head and Neck Oncology: Current Clinical Practice. The Results of an International American Head and Neck Society Member Survey. *Head Neck* **2005**, *27*, 952–958, doi:10.1002/HED.20269.
430. Woolgar, J.A.; Triantafyllou, A. A Histopathological Appraisal of Surgical Margins in Oral and Oropharyngeal Cancer Resection Specimens. *Oral Oncol.* **2005**, *41*, 1034–1043, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2005.06.008.
431. Binahmed, A.; Nason, R.W.; Abdoh, A.A. The Clinical Significance of the Positive Surgical Margin in Oral Cancer. *Oral Oncol.* **2007**, *43*, 780–784, doi:10.1016/J.ORALONCOLOGY.2006.10.001.
432. Chiou, W.-Y.; Lin, H.-Y.; Hsu, F.-C.; Lee, M.-S.; Ho, H.-C.; Su, Y.-C.; Lee, C.-C.; Hsieh, C.-H.; Wang, Y.-C.; Hung, S.-K. Buccal Mucosa Carcinoma: Surgical Margin Less than 3 Mm, Not 5 Mm, Predicts Locoregional Recurrence. *Radiat. Oncol.* **2010**, *5*, 79, doi:10.1186/1748-717X-5-79.
433. Rougier, G.; Meningaud, J.P.; Ganry, L.; Hermeziu, O.; Bosc, R.; Sidahmed-Mezi, M.; Hersant, B. Oncological and Aesthetic Outcome Following Surgical Management of Orbito-Palpebral Skin Cancers: A Retrospective Study of 132 Patients. *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* **2019**, *47*, 1577–1582, doi:10.1016/j.jcms.2019.07.015.
434. Matsuda, Y.; Kumakura, I.; Okui, T.; Karino, M.; Aoi, N.; Okuma, S.; Takeda, M.; Hayashida, K.; Sakamoto, T.; Kanno, T. Development of a Subjective Symptom Rating Scale for Postoperative Oral Dysfunction in Patients with Oral Cancer: Reliability and Validity of the Postoperative Oral Dysfunction Scale-10. *Diagnostics*

2021, Vol. 11, Page 2061 **2021**, 11, 2061, doi:10.3390/DIAGNOSTICS11112061.

435. Bungum, A.; Jensen, J.S.; Jakobsen, K.K.; Christensen, A.; Grønhøj, C.; von Buchwald, C. Impact of Surgical Resection Margins Less than 5 Mm in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: A Systematic Review. *Acta Otolaryngol.* **2020**, *140*, 869–875, doi:10.1080/00016489.2020.1773532.
436. Yahalom, R.; Dobriyan, A.; Vered, M.; Talmi, Y.P.; Teicher, S.; Bedrin, L. A Prospective Study of Surgical Margin Status in Oral Squamous Cell Carcinoma: A Preliminary Report. *J. Surg. Oncol.* **2008**, *98*, 572–578, doi:10.1002/jso.21034.
437. Smithers, F.A.E.; Haymerle, G.; Palme, C.E.; Low, T.H.; Froggatt, C.; Gupta, R.; Clark, J.R. A Prospective Study of Intraoperative Assessment of Mucosal Squamous Cell Carcinoma Margins in the Head and Neck. *Head Neck* **2021**, *43*, 590–600, doi:10.1002/hed.26517.
438. Gerber, S.M. The Impact of Frozen Sections on Surgical Margins in Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity and Lips: A Retrospective Analysis 1998-2008. **2011**, doi:10.5167/uzh-56105.
439. Pošta, P.; Kolk, A.; Pivovarčíková, K.; Liška, J.; Genčur, J.; Moztarzadeh, O.; Micopulos, C.; Pěnkava, A.; Frolo, M.; Bissinger, O.; et al. Clinical Experience with Autofluorescence Guided Oral Squamous Cell Carcinoma Surgery. *Diagnostics* **2023**, *13*, 3161, doi:10.3390/diagnostics13203161.