



Referentgranskad – accepterad  
för publicering 17 juni 2021.

# Icke-invasiv kontroll av cellförändringar i munslemhinnan

Foto: Michael Hirsch



## Författare

**Jan-Michaél Hirsch** (bild), prof emeritus, inst för kirurgiska vetenskaper, odontologi & maxillofacial kirurgi, Uppsala universitet; Folk tandvården Stockholms län AB, huvudkontoret, Forsknings- och utbildningsavd.

E-post: jan.hirsch@sll.se

**Neda Haj-Hosseini**, PhD, inst för medicinsk teknik, Linköpings universitet, Linköping.

**Carina Krüger Weiner**, ötdl, med dr, Folk tandvården Stockholms län AB, Eastmaninstitutet, Käkkirurgiska kliniken.

**Bengt Hasséus**, docent, ötdl, avd för oral medicin och patologi, inst för odontologi, Sahlgrenska akademien, Göteborgs universitet.

**Joakim Lindblad**, docent, inst för informationsteknologi, visuell information och interaktion, Uppsala universitet.

**I dag finns flera icke-invasiva metoder för kontroll av potentiellt maligna förändringar i munslemhinnan, som alternativ till vävnadsbiopsier. Borstbiopsier för cytologisk analys med automatiserad diagnostik är en säker och kostnadseffektiv metod som skulle kunna användas i allmänpraxis och bidra till att minska prevalensen av oral cancer.**

Mun- och svalgancer är betydligt vanligare än livmoderhalscancer, som minskat tack vare screening med icke-invasiva borstprover för cytologi och virusdiagnostik [1]. Med ett likartat system skapas förutsättningar för tandvården att bidra till ett minskat antal fall av munhålecancer [2]. I dagsläget finns flera icke-invasiva metoder för kontroll av slemhinnor som alternativ till upprepade vävnadsbiopsier. Borstbiopsier för cytologisk analys med automatiserad diagnostik baserad på objektiv djupinlärande förståelig artificiell intelligens är en enkel, säker, snabb och kostnadseffektiv metod som i dagsläget tycks bäst lämpad i klinisk praxis.

## INTRODUKTION

WHO (World Health Organization) uppmanar i ”Oral cancer prevention and control – The approach of the World Health Organization resolution” medlemsstaterna att involvera odontologisk personal i ett nationellt program för tidig detektion, diagnos och adekvat omhändertagande av munhålecancer [3, 4].

I Sverige har Sveriges Kommuner och Regioner (SKR) tillsammans med företag och organisationer beviljats finansiering för ”innovationshub cancer” med målet att eliminera cancer som dödsorsak och göra Sverige världsledande genom att involvera expertis från skilda vetenskapsgrenar [5].

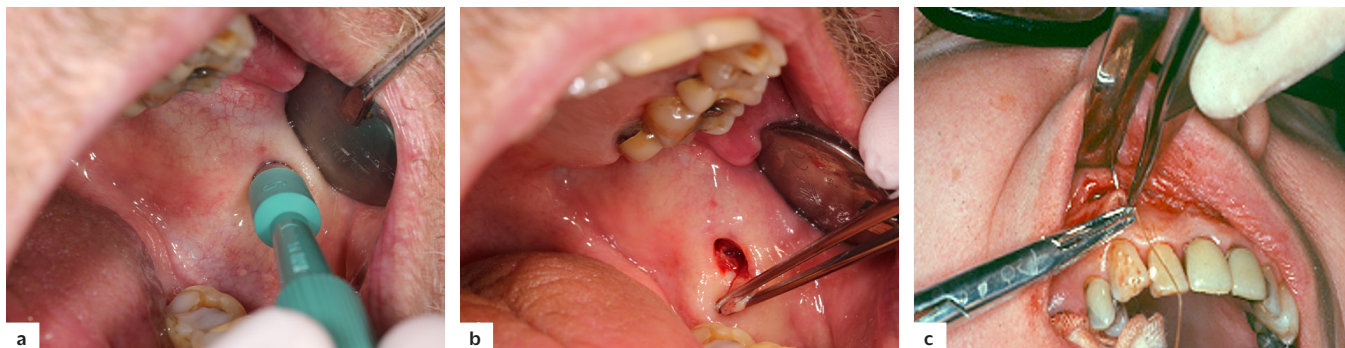
I Indien är munhålecancer den tredje vanligaste cancerformen med 9,1 fall per 100 000 [6], medan länder i Östeuropa återfinns på sjätte till fjortonde plats med 5,5 till 7,5 fall per 100 000. I Västeuropa

## Kan icke-invasiva metoder ersätta vävnadsbiopsier?

sticker Frankrike ut med en prevalens om 6,3 på plats 10, och i Sverige är prevalensen 6,2 per 100 000 fall av skivepitelcancer i läpp, tunga, munbotten, mun och i annan eller ospecificerad del [7].

Att upptäcka cancer i ett tidigt stadium är avgörande för att kunna bota och ge patienten ett dragligt liv med acceptabel livskvalitet efter behandling. I Sverige saknar tandvården nationella riktlinjer för detta, men med tillgång till icke-invasiva metoder, huvudsakligen optiska och icke joniserade, med en sensitivitet och specificitet jämförbar med vävnadsbiopsier torde riskpatienter med potentiellt maligna munslemhinnelesjoner (Potentially Malignant Oral Disorder, PMOD) effektivt kunna kontrolleras och antalet utvecklade cancrar sannolikt kunna reduceras. PMOD:s är sjukdomstillstånd i den orala slemhinnan med förhöjd risk att utveckla cancer [8]. Orala leukoplakier (OL) tillhör denna grupp och har en global prevalens på cirka 2 procent [9].

Med ett säkert system skulle tandhygienister, på uppdrag av tandläkare inom allmäntandvården, kunna svara för nödvändiga kontroller och avlasta speciallisttandvården. Det finns risker med uppre-



**Figur 1 a–c**  
a–b) Vävnadsbiopsi med stans.  
c) Vävnadsbiopsi med excision av förändring.

pade vävnadsbiopsier med trauma, inflammation och DNA-skada som följd, med en högre frekvens av malign cellomvandling av OL [10–12]. Mekanisk skada underlättar också penetrering och absorption av virus samt reaktivering av latenta infektioner, vilket kan leda till malign celltransformation [13–15].

Syftet med denna artikel är att beskriva och diskutera ett antal icke-invasiva metoder som alternativ till vävnadsbiopsier som kan underlätta fortlöpande kontroller av PMOD.

#### **KLINISK UNDERSÖKNING UTAN SPECIFIKA HJÄLPMEDEL PLUS VÄVNADSBIOPSI**

Att vid klinisk undersökning med blotta ögat bedöma PMOD är svårt, speciellt om lesionerna är mindre framträdande. För att säkerställa en diagnos krävs en vävnadsbiopsi eller – vid förändringar i olika lokaliseringar – flera (figur 1 a–c). Vävnadsproverna skickas till oral patologi för diagnostik och baserat på utlåtandet beslutas om när, var, hur och av vem uppföljande kontroller ska ske. Patienter med PMOD kontrolleras inom specialisttandvården med tanke på risken för tumörutveckling, vilket kan kräva upprepade biopsier. Värdet av detta är oklart då en histopatologisk beskrivning och gradering av dysplasi är subjektiv [16–19].

Flera studier rapporterar att det finns ett samband mellan graden av dysplasi och malign cellomvandling, medan andra hävdar att det saknas ett samband [12, 20, 21]. Reibel 2003 rapporterade en frekvens av cancerutveckling av lesioner med oral dysplasi under 15 år på 3,9 procent. Vid svår dysplasi var andelen 6,8 procent, vid måttlig dysplasi 4,5 procent och 2,4 procent vid mild dysplasi, samt 4,5 procent vid hyperkeratos utan dysplasi. Detta visar på det oklara värdet av gradering av dysplasi för sannolikheten av progression till cancer [16].

#### **ICKE-INVASIV DIAGNOSTIK**

I en femtonårsstudie i Kerala i Indien undersökte utbildade hälsoarbetare visuellt vart tredje år munslimhinnan hos tobaks- och, eventuellt, alkoholkonsumenter, vilket resulterade i en minskning av cancerdödlighet. Den största reduktionen notera-

des i gruppen som deltog i fyra förutbestämda screeningtillfällen. Patienter med misstanke om PMOD eller cancer skickades till specialistkliniker för diagnostik, vilket inkluderade vävnadsbiopsier [22]. Även Rethman et al (2010) fann att visuell screening kan reducera mortaliteten i munhåle cancer, speciellt i en grupp av tobaksbrukare med eller utan samtidig alkoholkonsumtion [23].

Det finns i dag ett antal icke-invasiva optiska metoder som föreslagits som komplement till klinisk undersökning och vävnadsbiopsi.

#### **Fraktal dimensionsanalys baserad på digitala foton**

Jäwert et al (2021) rapporterade 11,5 procent risk för OL att malignisera under nio år med en årlig transformation om 3,5 procent där icke homogena OL med dysplasi lokaliserade till tungan löpte störst risk [21]. Vilka faktorer som styr detta är oklart, vilket skapar betydande svårigheter när prognosen ska bedömas. Men risken kan matematiskt estimeras med digital fraktal dimensionsanalys (FDA) av högupplösta digitala foton av lesionerna, vilket kan göras då OL har förgreningsmönster med fraktala egenskaper.

Det har visat sig att de FD-värden som beräknades av lesioner med dysplasi eller oral cancer är signifikant skilda från normal slemhinna. FDA är lätt att utföra på digitala bilder före och efter infärgning med toluidinblått av området med lesionen. Infärgningen visar förändringens utbredning, och graden av avvikelse från det normala beräknas med FDA genom att jämföra opåverkad och förändrad slemhinna [24–26]. Emellertid är FDA beroende av en fotografisk avbildning vars kvalitet kan variera avsevärt, vilket gör metodiken osäker.

#### **Autofluorescensmetoder vid undersökning av munslimhinna**

Mycket intresse har kommit att riktas mot vävnadsfluorescens som hjälpmedel vid diagnostik.

Celler innehåller molekyler som fluorescerar när de exciteras av ultraviolett (UV) eller visuellt ljus av lämplig våglängd. Denna fluorescensemission, som härrör från endogena fluoroforer, är en

**”Med ett säkert system skulle tandhygienister ... kunna svara för nödvändiga kontroller och avlasta specialisttandvården.”**



## ”Undersökning med optiska metoder framkallar ingen vävnadsskada, men det återstår att visa att metoderna är kliniskt användbara och tillförlitliga ...”

inneboende egenskap hos celler och kallas autofluorescens. Förändringar som sker i vävnaden, fysiologiskt eller vid patologiska processer, resulterar i modifieringar av mängden och fördelningen av endogena fluoroforer. Ljusbaserade icke-invasiva diagnostiska tekniker kan detektera dessa ändringar i realtid, eftersom inga substanser behöver tillföras patienten och ingen fixering eller färgning av prover krävs för tidig upptäckt av till exempel PMOD eller oral cancer [27].

Den största fördelen med autofluorescens-tekniker är att de kan utföras relativt enkelt på mottagningen och på medicinskt komprometterade patienter där vävnadsbiopsi är kontraindicerat. Teknikerna kan även användas för att definiera kirurgiska marginaler vid excision av en förändring och säkerställa radikalitet. Med tillsättning av fotosensibiliserande medel, det vill säga exogena fluorescerande markörer som är kliniskt godkända, ökar vävnadens fluorescens vilket underlättar avgränsning av förändringen [27].

### Visuell autofluorescensavbildning (VELscope®)

VELscope® är ett handhållet bildgivande instrument som registrerar fluorescens, och med en Vx Imaging Adapter som använder en Apple iPod touch® kan digital avbildning göras. VELscope® sänder ut ett starkt blått ljus som absorberas av fluoroforer i slemhinnan och ger upphov till en intensiv grön autofluorescens. Vid en förändring i vävnaden minskar fluoroforer och den emitterade autofluorescensen, varför skadad vävnad generellt ser annorlunda ut än

frisk vävnad (figur II a–c). Den utsända fluorescensen skymms emellertid av reflekterat vitt ljus och excitationljus och kan inte ses med blotta ögat, men med filtrering blir fluorescensen synlig.

Problemet är att såväl PMOD som tidig cancer avbildas mörkare, precis som vävnad som är förändrad utav helt andra anledningar. För kliniker med lång erfarenhet kan undersökning ge vägledning, men inte med säkerhet användas för att bedöma förekomst av patologi.

Metoden har en sensitivitet om 76 procent och en specificitet på 66 procent. På grund av det höga antalet falska positiva svar anses inte VELscope® vara ett alternativ till vävnadsbiopsier. Trots detta anser WHO att VELscope® är effektivt vid uppföljning av PMOD [28, 29].

### Digital autofluorescensavbildning

Vid autofluorescensavbildning exponeras slemhinnan för strålning i ett våglängdsintervall mellan nära ultraviolett och grönt ljus, och fluorescerar med grönt ljus. Precis som med VELscope® visualiseras utbredningen och påverkan på vävnaden genom att förändringar har lägre fluorescensintensitet och en mörkare grön färg [27, 30]. Färgförändringen vid PMOD och cancer beror på förlust av kollagen i epitelets underliggande stroma, vilket föregår invaderande tumörväxt [27].

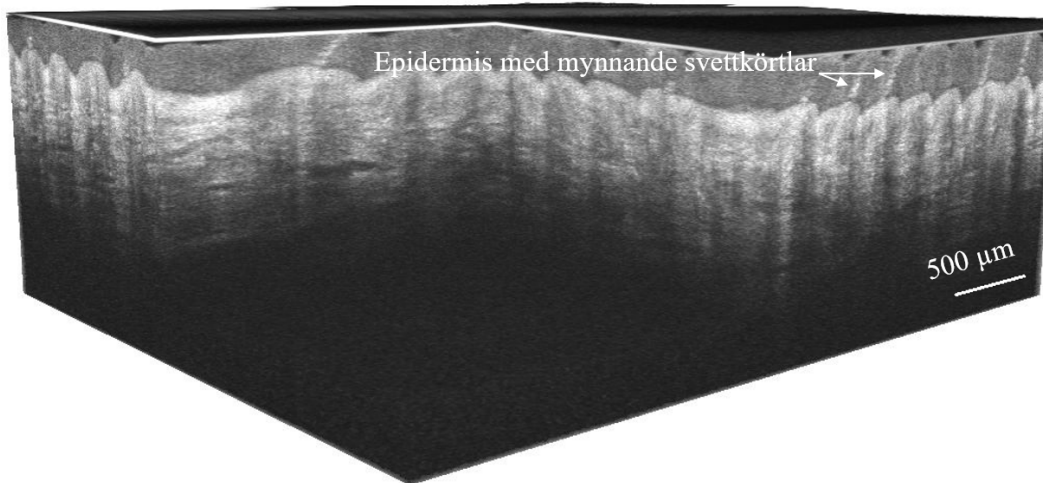
Skillnaden mellan VELscope® och digital autofluorescensavbildning är att den fluorescens som uppstår i vävnaden avbildad med digital kamera kan jämföras med ett referensmaterial av normal slemhinna. Undersökningen blir därmed mer objektiv jämfört med VELscope®, som är helt beroende av erfarenhet.

Att en förändrad vävnad avgränsas från den normala genom sin mörkare nyans betyder inte



Figur II a–c

- a) Inspektion med fluorescerande ljus (VELscope®). Enkel och smärtfri undersökning; patienten kan uppleva en lätt värmeökning. Skyddsglasögon används.  
 b) Skivepitelcancer höger underläpp.  
 c) Vid undersökning med fluorescerande ljus syns tydligt en skillnad i vävnadsvolym. VELscope® sänder ut ett starkt blått ljus som absorberas av fluoroforer i slemhinnan och ger upphov till en intensiv grön autofluorescens. Vid en förändring i vävnaden minskar fluoroforer och den emitterade autofluorescensen, varför påverkad vävnad blir mörkare.



**Figur III**  
OCT-bild visar 2 mm djup avbildning av fingertoppen. De olika hudlagren, epidermis, dermis och hypodermis, syns i bilden tillsammans med svettkörtelutförsgång.

att det finns någon självklar koppling till PMOD eller cancer, och därmed är inte heller enbart digital autofluorescensavbildning ett alternativ till vävnadsbiopsi [27, 31].

### Autofluorescensspektroskopi

Autofluorescensspektroskopi utreder förändringar på subklinisk nivå. Systemet består av en ljuskälla som laddar vävnaden via en optisk fiber. Den fluorescens som emitteras av vävnaden tas sedan upp med en optisk fiber som appliceras mot slemhinnan. Den registrerade fluorescensen kan sparas ner på en dator för matematisk spektralanalys, som är mer objektiv och har en högre sensitivitet än enbart visuell bedömning av bilden. Vid en slemhinnelesion visar spektralanalysen skillnaden i fluorescensintensitet mellan normal och påverkad slemhinna. I daglig praxis utreds kliniskt synliga förändringar och det är inte möjligt att på varje patient skanna munhålan för att utesluta förändringar på molekylär nivå.

Tidig upptäckt av PMOD och maligna lesioner är det mest effektiva sättet att förbättra canceröverlevnad. Tanken med visuell/digital fluorescensavbildning och autofluorescensspektroskopi är att vara enkla icke-invasiva tekniker för att tidigt kunna identifiera orala neoplasier och dess utbredning. Undersökning med optiska metoder framkallar ingen vävnadsskada, men det återstår att visa att metoderna är kliniskt användbara och tillförlitliga när det gäller att påvisa PMOD och cancer [27, 31].

### Optisk koherenstomografi

Optisk koherenstomografi (OCT) är en icke-invasiv avbildningsteknik som möjliggör bedömning av morfologiska förändringar i såväl mjuk- som hårdvävnad [32].

OCT använder laserljus i nära infraröda områ-

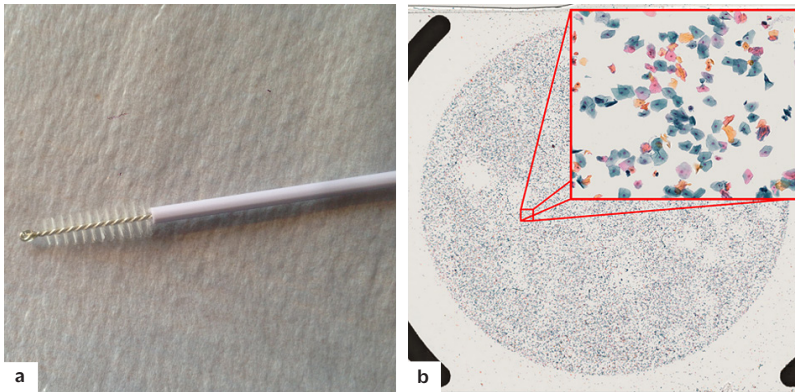
det och konstruerar högupplösta, flera millimeter djupa, mikroskopiska tvärsnittsbilder av det aktuella området utan någon kontakt mellan patienten och apparaturen [33]. Tidigare studier har visat att med OCT är det möjligt att bedöma epitel, basalmembran och subepitelial vävnad makroskopiskt vid såväl friskt tillstånd som vid malignitet [34, 35].

Med sitt penetrationsdjup och sin höga upplösning kan OCT fungera vid undersökning av munslemhinna snabbt och enkelt [36]. Avbildningen och tolkningen av bilderna är dock subjektiv och helt beroende på utförarens kompetens [34, 35]. Med hjälp av artificiell intelligens och bildanalys kan tolkningen förenklas [37]. För tillfället är det huvudsakliga användningsområdet för OCT inom ögondiagnostik, men kan användas vid undersökningar av nästan hela kroppen inom så skilda områden som tänder och hud (figur III).

Även om OCT är relativt lätt att utföra och är attraktiv som metod för diagnostisk och uppföljande kontroller behövs det ytterligare utveckling för att denna bildteknik ska bli ett alternativ till vävnadsbiopsi [38].

Med polariseringskänslig (PS) OCT som drar fördel av det faktum att flera material och vävnader kan förändra ljusets polarisationstillstånd och lägga till ytterligare en kontrastkanal, tillhandahålls mer kvantitativ information och därigenom kan osäkerheten vid bildtolkningen som finns med OCT reduceras och minimala förändringar i munslemhinnan påvisas *in vivo*.

PS-OCT har hög sensitivitet och noggrannhet när det gäller att detektera dysplastiska förändringar och cancer i tidigt stadium, och kan även användas för att visualisera tumörmarginaler vid kirurgi. PS-OCT har testats i en pilotstudie på möss för sekventiell avbildning av experimentellt framkallade förändringar i munslemhinnans stroma vid



**Figur IV a–b**  
Borstprov från lesion där PAD visat grav dysplasi samt HPV 16-infektion.

a) Cytobrush för provtagning.  
b) Orala epitelceller från samma lesion som visar grav dysplasi. Oranga celler är hyperkeratiniserade ytceller där kärnan saknas.

Blå celler med hyperkromatisk kärna med lågt kärn-cytoplasmiskt förhållande tolkas som grava dysplastiska epitelceller. De dysplastiska cellerna är relativt oregelbundna i formen, elongerade, vilket brukar tyda på en pågående process där epitelceller förlorar sin cellpolaritet och cell-cellvidhäftning och får migrerande och invasiva egenskaper, en så kallad epithelial-mesenchymal transition.

normal slemhinna, vid hyperplasi och vid dysplasi samt vid förstadium till cancer. Kliniska studier får visa om PS-OCT är att rekommendera för klinisk avbildning av orala vävnader [38, 39].

#### Ramanmetoder

Ramanspektroskopi är en teknologi för optisk diagnostik i realtid som kan användas för kvantifiering av mängden molekyler associerad med tumörutveckling i biologiska prover. Med tekniken går det att se biologiska processer som sker på cell-, molekylär- och DNA-nivå, till exempel förändringar i aminosyrasekvenser och i proteinmönster. Signalerna är svaga och tolkningen kräver omfattande kunskap och erfarenhet samt är starkt beroende av metoder för analys och statistiska beräkningar för att extrahera informationen.

Ramanstudier för att detektera muncancer eller de viktigaste molekylära markörerna, proteiner, aminosyror och betakaroten, visar hög sensitivitet och specificitet [40]. Tumörgränser vid kirurgi är av betydelse för att uppnå radikalitet och kan identifieras med analys av skillnaden i vattenhalt mellan normal vävnad och tumörvävnad [41]. Ramanspektroskopi har även visat sig fungera vid klassificering av PAD-verifierade broskbildande tumörer [42].

Intresset för användning av Ramantekniker vid såväl klinisk undersökning som vid kirurgi ökar, vilket ställer krav på anpassning av tekniken [43, 44]. De system som används i dag på klinikerna är mestadels spektroskopiska, handhållna bildgivande system [45] eller endoskopiska [46].

#### Cytologisk analys av borstbiopsi

Alla de ovan listade icke-invasiva metoderna bygger på avbildning i direkt anslutning till patienten, vilket ställer krav på lokal tillgång till instrumentering och personal att hantera densamma. Metoder som baseras på extern avbildning av biopsiprover undviker detta, då prover kan transporteras dit tekniska resurser och kompetens finns, vilket är en fördel

för att till en rimlig kostnad kunna erbjuda likvärdig hälsovård även i mindre tillgänglig landsbygd.

Deurling et al 2019 analyserade och jämförde 1 352 borstbiopsier tagna för cytologisk diagnostik med samma antal patologiska-anatomiska analyser av vävnadsbiopsier av orala lesioner. Resultatet visade klart att vätskebaserade borstbiopsier för cytologisk diagnos har hög sensitivitet (95 procent) och specificitet (85 procent) och författarna konkluderade att borstprover är fullt pålitliga för diagnostik av neoplasier i munhålan [47]. Således framstår borstbiopsier med dagens teknik som ett tillförlitligt alternativ till incisionsbiopsier för att diagnostisera cellförändringar [48–50].

Från PMOD eller förändringar som misstänks vara cancer tas cellprover för cytologisk bedömning (figur IV). Cellerna överförs omedelbart till en transportbehållare och skickas till cytologiskt laboratorium där celler maskinellt överförs till objektglas och färgas enligt Papanicolaou. I ett första steg bedöms provet av en cytologassistent som markerar förekomst av avvikande celler följt av eftergranskning av en cytolog (figur IV a–b) [51, 52].

Vid vävnadsbiopsi, till skillnad från borstbiopsi, används lokal anestesi och vanligen suturering och är därmed mera resurskrävande och dyrare. Båda metoderna kräver specialister för diagnostik, vilket är kostsamt och ett hinder för att införa systemet i stor skala. Emellertid öppnar tekniker baserade på AI möjligheter att radikalt sänka analyskostnaden, snabba upphandlingen och samtidigt öka den diagnostiska noggrannheten. I stället för manuell mikroskopisk analys skannas glaset in för digital analys. Via ett webbaserat gränssnitt kan den AI-baserade analysen manuellt också övervakas på distans [53]. Genom att integrera metoder för förklarande AI går det nu att erbjuda ett interaktivt verktyg för bästa möjliga diagnostik till en minimal kostnad [54, 55].

I pågående studier vid Folktandvården Region Dalarna och Falu lasarett samt Stockholm med medverkan från Karolinska institutet, Karolinska universitetssjukhuset och Centrum för bildanalys vid Uppsala universitet testas nu i allmäntandvården tandhygienister och tandläkare som utförare av borstprover. Preliminära data visar att 99 procent av borstbiopsierna är möjliga att använda för diagnostik [56]. Provtagning skulle därmed rutinmässigt kunna göras i allmäntandvårdspraxis, och kanske även egen självprovtagning precis som vid screening för cancer i cervix som visat sig fungera väl [57]. Proverna skickas till ett laboratorium för provbearbetning och avbildning följt av AI-driven analys, som sedan via webbaserade gränssnitt enkelt kan nås via nätet och granskas av cytolog lokaliserad på valfri plats [58].

#### Salivbaserade biomarkörer

Icke-invasiv diagnos av cancer är ofta nyckeln till effektiv behandling och patientöverlevnad. Saliven

innehåller olika biomarkörer som signalerar sjukdom och har stor potential för tidig cancerdiagnostik med kostnadseffektiv och enkel insamling, lagring, transport och bearbetning.

En systematisk litteraturgenomgång [59] värderade tidigare data avseende möjliga salivmarkörer för PMOD och oral cancer i såväl ostimulerad som stimulerad morgonsaliv, huvudsakligen helsaliv men även körtelspecifik saliv. Dessa tidigare studier visade att de flesta av de möjliga markörerna är proteiner. Författarnas konklusion var att en kombination av biomarkörer i saliv skulle kunna användas som screeningverktyg för att förbättra tidig upptäckt och diagnostisk säkerhet av PMOD och cancer. Emellertid krävs standardisering av salivuppsamling, bearbetning, lagringsmetoder och analysmetoder för standardisering av salivbiomarkörer. Likaså måste gränsvärden för olika salivbiomarkörer definieras för friska och för PMOD och oralcancer.

Den bästa möjligheten till diagnostisering i saliv bör baseras på en kombination av biomarkörspaneler efter standardisering av proceduren, som då skulle kunna användas som ett effektivt screeningverktyg för att förbättra tidig upptäckt och diagnostisk precision. Dessutom kan en kombination av biomarkörer med konventionell teknik ge additiva och kraftfulla diagnostiska möjligheter för tidig upptäckt av precancer- och cancer.

Baserat på dessa resultat kan forskare och kliniker nu gå vidare för att påvisa och utvärdera tillförlitliga, specifika och känsliga biomarkörer i saliv.

### SAMMANFATTNING

Cancer i munhåla och svalg är en av de vanligaste tumörerna i världen, med cirka 370 000 fall årligen och cirka 1 200 fall i Sverige [7]. Tidig upptäckt är avgörande för överlevnad och kan uppnås genom noggrann undersökning och utredning i samband med tandvård.

Regel är att vävnadsprov tas för att säkerställa diagnos av potentiellt maligna förändringar och därefter krävs uppföljning under många år. Detta kan ske inom allmäntandvård, men för att detta ska vara hanterbart i daglig praxis krävs ett pålitligt och kostnadseffektivt system som är enkelt att interagera med och lita på för beslutsstöd.

Det finns i dag ett stort antal icke-invasiva metoder som skulle kunna vara ett alternativ till vävnadsbiopsier, vid initial undersökning och/eller vid uppföljande kontroller. Tyvärr kan flertalet av dessa system i dagsläget inte svara med tillräcklig säkerhet på förekomst av premaligna eller maligna tillstånd, eller så är de inte anpassade för kliniskt bruk.

Icke-invasiva borstbiopsier följt av cytologisk analys med automatisk karakterisering av PMOD med hjälp av djupinlärande artificiell intelligens är en objektiv, lätthanterlig, snabb och kostnadseffektiv metodik för att påvisa malignitet. En studie av

Folktandvården Dalarna och Stockholm, med tandhygienister och tandläkare som utförare, visar på att detta erbjuder en möjlighet att fortlöpande övervaka munslimhinneförändringar hos riskpatienter. Tandhygienister och tandläkare i allmänpraxis torde därmed kunna avlasta specialisttandvården och svara för nödvändiga fortlöpande kontroller av potentiellt maligna orala lesioner och därigenom bidra till att minska prevalensen av oral cancer.

### ENGLISH SUMMARY

*Non-invasive control of cell changes in the oral mucosa*

*Jan-Michaél Hirsch, Neda Haj-Hosseini, Carina Krüger Weiner, Bengt Hasséus and Joakim Lindblad*

*Tandläkartidningen 2021; 113 (9): 48–54*

Cancer of the oral cavity and throat is one of the most common tumors in the world, with approximately 370,000 cases a year. Indeed, in Sweden, about 1,200 cases are identified annually [7]. Early detection is crucial for survival and can be achieved through careful examination in connection with dental care. Tissue samples are taken to ensure diagnosis of potentially malignant changes and the patients are monitored for many years. The follow-up can be performed at general dental practices, but to be manageable, responsible caregivers need a reliable simple interactive and trustful system for decision support. Currently, non-invasive methods could be used as an alternative to biopsies but unfortunately, these are not easy to handle in daily clinical practice nor sufficiently reliable to detect premalignant or malignant conditions. Non-invasive brush biopsy combined with automatic cytological characterization using deep-learning-based artificial intelligence is an objective, manageable, fast and cost-effective method for detecting malignancy-associated cells. A study at the Public Dental Health Services in the regions of Dalarna and Stockholm, with dental hygienists and dentists, demonstrates that this is a promising approach to continuously monitor oral mucosal changes in at-risk patients. Dental hygienists and dentists in general practice could thus relieve specialist care and be responsible for the necessary continuous surveillance of potentially malignant oral lesions, and thereby contribute to reducing early death in oral cancer.

### OMNÄMNANDE

Finansiering: Folktandvården Stockholms län AB, referens 7071, och Folktandvården Region Dalarna, forskningsstiftelsen Folktandvården Dalarna. Vinnova, projekt 2017-02447, 2019-1908 och 2020-03611, delvis genom Medtech4Health och Analytic Imaging Diagnostics Arena (AIDA).

Bildbidrag: Christina Runow Stark, avd chef, med dr, ötdl orofacial medicin, Region Blekinge, Karlskrona, christina.runowstark@regionblekinge.se. ●

**“Preliminära data visar att 99 procent av borstbiopsierna är möjliga att använda för diagnostik.”**



## Referenser

- Lindahl G, Borgfeldt C. Cervixcancer 2020. Available from: <http://www.internetmedicin.se/page.aspx?id=2735>
- Mignogna MD, Fedele S. Oral cancer screening: 5 minutes to save a life. *The Lancet* 2005; 365 (9475): 1905–6.
- Petersen PE. Oral cancer prevention and control – the approach of the World Health Organization. *Oral Oncol* 2009; 45 (4–5): 454–60.
- World Health Organization. The world health report 2007 – A safer future: global public health security in the 21st century. 2007.
- Nollvision och innovation – så ska Sverige bli ledande på cancervård: Stockholm school of economics; 2020. Available from: [https://www.mynewsdesk.com/se/handelshogskolan\\_i\\_stockholm/news/nollvision-och-innovation-saa-ska-sverige-bli-ledande-paa-cancervaard-391375](https://www.mynewsdesk.com/se/handelshogskolan_i_stockholm/news/nollvision-och-innovation-saa-ska-sverige-bli-ledande-paa-cancervaard-391375)
- Mummudi N, Agarwal JP, Chatterjee S, Mallick I, Ghosh-Laskar S. Oral cavity cancer in the indian subcontinent – challenges and opportunities. *Clinical Oncology* 2019; 31 (8): 520–8.
- NORDCAN – cancerstatistik för de nordiska länderna [Internet]. Available from: <https://www-dep.iarc.fr/NORDCAN/SW/frame.asp>
- Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, Bagan JV, González-Moles MÁ, Kerr AR 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 Diseases*. n/a(n/a).
- van der Waal I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. *Oral Oncology* 2009; 45 (4): 317–23.
- Holmstrup P, Vedtofte P, Reibel J, Stoltze K. Long-term treatment outcome of oral premalignant lesions. *Oral Oncol* 2006; 42 (5): 461–74.
- Kundu JK, Surh YJ. Emerging avenues linking inflammation and cancer. *Free Radic Biol Med* 2012; 52 (9): 2013–37.
- Liu W, Shi L-J, Wu L, Feng J-Q, Yang X, Li J et al. Oral cancer development in patients with leukoplakia – clinicopathological factors affecting outcome. *PLOS ONE* 2012; 7 (4): e34773.
- Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Intern Med* 2000; 248 (3): 171–83.
- Hirsch JM, Johansson SL, Thilander H, Vahlne A. Effect of long-term application of snuff and herpes simplex virus 1 on rat oral mucosa. Possible association with development of oral cancer. *IARC Sci Publ* 1984 (57): 829–36.
- Siegsmond M, Waysse K, Amtmann E. Activation of latent papillomavirus genomes by chronic mechanical irritation. *J Gen Virol* 1991; 72 (11): 2787–9.
- Reibel J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14 (1): 47–62.
- Holmstrup P, Vedtofte P, Reibel J, Stoltze K. Oral premalignant lesions: is a biopsy reliable? *J Oral Pathol Med* 2007; 36 (5): 262–6.
- Mehanna HM, Rattay T, Smith J, McConkey CC. Treatment and follow-up of oral dysplasia – a systematic review and meta-analysis. *Head Neck* 2009; 31 (12): 1600–9.
- Abbey LM, Kaugars GE, Gunsolley JC, Burns JC, Page DG, Svirsky JA et al. Intraexaminer and interexaminer reliability in the diagnosis of oral epithelial dysplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 80 (2): 188–91.
- Liu W, Wang YF, Zhou HW, Shi P, Zhou ZT, Tang GY. Malignant transformation of oral leukoplakia: a retrospective cohort study of 218 Chinese patients. *BMC Cancer* 2010; 10: 685.
- Jäwert F, Pettersson H, Jägefält E, Holmberg E, Kjeller G, Öhman J. Clinicopathologic factors associated with malignant transformation of oral leukoplakias: a retrospective cohort study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2021.
- Sankaranarayanan R, Ramadas K, Thara S, Muvwonge R, Thomas G, Anju G et al. Long term effect of visual screening on oral cancer incidence and mortality in a randomized trial in Kerala, India. *Oral Oncol* 2013; 49 (4): 314–21.

Den kompletta referenslistan återfinns i webbversionen av artikeln på tandlakartidningen.se.

# Forskare? Vill du bidra med en **vetenskapsartikel?**

SÄND DITT MANUSKRIFT FÖR BEDÖMNING TILL:

**Tandläkartidningen**

Box 1217, 111 82 Stockholm  
[manus@tandlakartidningen.se](mailto:manus@tandlakartidningen.se)  
 08-666 15 00



**Tandläkar**  
tidningen



## Referenser

23. Rethman MP, Carpenter W, Cohen EE, Epstein J, Evans CA, Flaitz CM et al. Evidence-based clinical recommendations regarding screening for oral squamous cell carcinomas. *J Am Dent Assoc* 2010; 141 (5): 509–20.
24. Iqbal J, Patil R, Khanna V, Tripathi A, Singh V, Munshi MAI et al. Role of fractal analysis in detection of dysplasia in potentially malignant disorders. *J Family Med Prim Care* 2020; 9 (5): 2448–53.
25. Pandey P, Kandakurti S, Saxena V, Tripathi P, Pamula R, Yadav M. Fractal analysis in oral leukoplakia. *J Indian Acad Oral Med Radiol* 2015; 27 (3): 354–8.
26. Tambasco M, Eliasziw M, Magliocco AM. Morphologic complexity of epithelial architecture for predicting invasive breast cancer survival. *J Transl Med* 2010; 8: 140.
27. Balasubramaniam AM, Sriraman R, Sindhuja P, Mohideen K, Parameswar RA, Muhamed Haris KT. Autofluorescence based diagnostic techniques for oral cancer. *J Pharm Bioallied Sci* 2015; 7 (Suppl 2): S374–7.
28. Ganga RS, Gundre D, Bansal S, Shirsat PM, Prasad P, Desai RS. Evaluation of the diagnostic efficacy and spectrum of autofluorescence of benign, dysplastic and malignant lesions of the oral cavity using VELscope. *Oral Oncol* 2017; 75: 67–74.
29. Ciccì M, Cervino G, Fiorillo L, D'Amico C, Oteri G, Troiano G et al. Early diagnosis on oral and potentially oral malignant lesions: a systematic review on the VELscope® Fluorescence Method. *Dent J (Basel)* 2019; 7 (3).
30. De Veld DCG, Witjes MJH, Sterenberg HJCM, Roodenburg JLN. The status of in vivo autofluorescence spectroscopy and imaging for oral oncology. *Oral Oncol* 2005; 41 (2): 117–31.
31. López-Jornet P, De la Mano-Espinosa T. The efficacy of direct tissue fluorescence visualization in screening for oral premalignant lesions in general practice: an update. *Int J Dent Hyg* 2011; 9 (2): 97–100.
32. Walther J, Golde J, Kirsten L, Tetschke F, Hempel F, Rosenauer T et al. In vivo imaging of human oral hard and soft tissues by polarization-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2017; 22 (12): 1–17.
33. García-Hernández A, Roldán-Marín R, Iglesias-García P, Malvehy J. In vivo noninvasive imaging of healthy lower lip mucosa: a correlation study between high-definition optical coherence tomography, reflectance confocal microscopy, and histology. *Dermatol Res Pract* 2013; 2013: 205256.
34. Mogensen M, Morsy HA, Nurnberg BM, Jemec GB. Optical coherence tomography imaging of bullous diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22 (12): 1458–64.
35. Gentile E, Maio C, Romano A, Laino L, Lucchese A. The potential role of in vivo optical coherence tomography for evaluating oral soft tissue: A systematic review. *J Oral Pathol Med* 2017; 46 (10): 864–76.
36. Di Stasio D, Lauritano D, Loffredo F, Gentile E, Della Vella F, Petrucci M et al. Optical coherence tomography imaging of oral mucosa bullous diseases: a preliminary study. *Dentomaxillofac Radiol* 2020; 49 (2): 20190071.
37. Tampu IE, Eklund A, Haj-Hosseini N. Deep-learning for thyroid microstructure segmentation in 2D OCT images: SPIE; 2021.
38. Chen P-H, Lee H-Y, Chen Y-F, Yeh Y-C, Chang K-W, Hou M-C et al. Detection of oral dysplastic and early cancerous lesions by polarization-sensitive optical coherence tomography. *Cancers* 2020; 12 (9): 2376.
39. de Boer JF, Hitzenberger CK, Yasuno Y. Polarization sensitive optical coherence tomography – a review [Invited]. *Biomed Opt Express* 2017; 8 (3): 1838–73.
40. Jeng M-J, Sharma M, Sharma L, Chao T-Y, Huang S-F, Chang L-B et al. Raman Spectroscopy analysis for optical diagnosis of oral cancer detection. *J Clin Med* 2019; 8 (9): 1313.
41. Barroso EM, Smits RW, van Lanschot CG, Caspers PJ, Ten Hove I, Mast H et al. Water concentration analysis by Raman spectroscopy to determine the location of the tumor border in oral cancer surgery. *Cancer Res* 2016; 76 (20): 5945–53.
42. D'Acunto M, Gaeta R, Capanna R, Franchi A. Contribution of Raman spectroscopy to diagnosis and grading of chondrogenic tumors. *Sci Rep* 2020; 10 (1): 2155.
43. Santos IP, Barroso EM, Bakker Schut TC, Caspers PJ, van Lanschot CGF, Choi D-H et al. Raman spectroscopy for cancer detection and cancer surgery guidance: translation to the clinics. *Analyst* 2017; 142 (17): 3025–47.
44. DePaoli D, Lemoine É, Ember K, Parent M, Prud'homme M, Cantin L et al. Rise of Raman spectroscopy in neurosurgery: a review. *J Biomed Opt* 2020; 25 (5): 050901.
45. Liao C-S, Wang P, Huang CY, Lin P, Eakins G, Bentley RT et al. In vivo and in situ spectroscopic imaging by a handheld stimulated raman scattering microscope. *ACS Photonics* 2018; 5 (3): 947–54.
46. Lombardini A, Mytskaniuk V, Sivankutty S, Andresen ER, Chen X, Wenger J et al. High-resolution multimodal flexible coherent Raman endoscope. *Light Sci Appl* 2018; 7 (1): 10.
47. Deuerling L, Gaida K, Neumann H, Remmerbach TW. Evaluation of the accuracy of liquid-based oral brush cytology in screening for oral squamous cell carcinoma. *Cancers (Basel)* 2019; 11 (11).
48. Bhosale S, Vyas T. Application of oral CDx brush biopsy in oral cancer detection. *J Dent Res Pract* 2019; 1 (1).
49. Ogden GR, Cowpe JG, Green M. Cytobrush and wooden spatula for oral exfoliative cytology. A comparison. *Acta Cytol* 1992; 36 (5): 706–10.
50. Remmerbach TW, Weidenbach H, Hemprich A, Böcking A. Earliest detection of oral cancer using non-invasive brush biopsy including DNA-image-cytometry: report on four cases. *Anal Cell Pathol* 2003; 25 (4): 159–66.
51. Hologic Inc. The ThinPrep® 2000 Processor [2021-04-22]. Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=EuUfQgAtKes>
52. Chantziantoniou N, Donnelly AD, Mukherjee M, Boon ME, Austin RM. Inception and development of the Papanicolaou stain method. *Acta Cytol* 2017; 61 (4–5): 266–80.
53. Rydell C, Lindblad J. CytoBrowser: a browser-based collaborative annotation platform for whole slide images F1000Research 2021; 10 (226).
54. Forslid G, Wieslander H, Bengtsson E, Wählby C, Hirsch J, Stark CR et al. Deep convolutional neural networks for detecting cellular changes due to malignancy. 2017 IEEE International Conference on Computer Vision Workshops (ICCVW); 2017 22–29 Oct 2017.
55. Koriakina N, Sladoje N, Bengtsson E, Ramqvist ED, Hirsch J, Stark CR et al. Visualization of convolutional neural network class activations in automated oral cancer detection for interpretation of malignancy associated changes. 2019. <https://www.regiondalarna.se/press/nyheter-och-pressmeddelanden/folkvandarden-testar-screening-for-att-tidigt-hitta-och-forebygga-muncancer/#>
56. Folkvandärden testar screening för att tidigt hitta och förebygga muncancer: Region Dalarna; 2019 [2021-04-22]. Available from: <https://www.regiondalarna.se/press/nyheter-och-pressmeddelanden/folkvandarden-testar-screening-for-att-tidigt-hitta-och-forebygga-muncancer/#>
57. Aarnio R, Östenson E, Olovsson M, Gustavsson I, Gyllensten U. Cost-effectiveness analysis of repeated self-sampling for HPV testing in primary cervical screening: a randomized study. *BMC Cancer* 2020; 20 (1): 645.
58. Lu J, Sladoje N, Runow Stark C, Darai Ramqvist E, Hirsch J-M, Lindblad J. A deep learning based pipeline for efficient oral cancer screening on whole slide images, 2020; Cham: Springer International Publishing.
59. Kaur J, Jacobs R, Huang Y, Salvo M, Politis C. Salivary biomarkers for oral cancer and pre-cancer screening: a review. *Clin Oral Invest* 2018; 22 (2): 633–40.
60. Birur NP, Gurushanth K, Patrick S, Sunny SP, Raghavan SA, Gurudath S et al. Role of community health worker in a mobile health program for early detection of oral cancer. *Indian J Cancer* 2019; 56 (2): 107–13.