

Klinika Chirurgii Głowy, Szyi i Onkologii Laryngologicznej  
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Bartosz Szybiak

**Rola poszerzonego badania histologicznego  
w ocenie wznowy miejscowej  
nowotworów dna jamy ustnej i języka**

The role of extended histological evaluation  
in oral cancer patients with local recurrences

Rozprawa doktorska

Promotor:

Prof. zw. dr hab. n. med. Wojciech Golusiński

Poznań 2017

*Serdecznie dziękuję mojemu Promotorowi  
Panu Prof. dr. hab. n. med. Wojciechowi Golusińskiemu  
za inspirację i pomoc w realizacji pracy*

*Pracę dedykuję Rodzinie*

## SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów stosowanych w tekście.....	6
1. Wstęp.....	8
1.1. Epidemiologia.....	8
1.2. Czynniki ryzyka.....	9
1.3. Rokowanie w raku jamy ustnej - języka i dna jamy ustnej.....	11
1.4. Przegląd piśmiennictwa dotyczący oceny złośliwości guza - badania histopatologiczne.....	13
1.5. Wznowa miejscowa raka języka i dna jamy ustnej.....	16
1.6. Wznowa regionalna - przerzuty do węzłów chłonnych szyi.....	17
2. Cel pracy.....	19
2.1. Cele ogólne.....	19
2.2. Cele szczegółowe.....	19
3. Materiał i metody.....	20
3.1. Materiał.....	20
3.1.1. Chorzy - grupa badana.....	20
3.1.2. Chorzy - grupa kontrolna.....	21
3.2. Metody.....	21
3.2.1. Badanie kliniczne.....	21
3.2.2. Badanie obrazowe.....	21
3.2.3. Ocena wznowy miejscowej.....	22
3.2.4. Przygotowanie materiału do badań histologicznych.....	22
3.2.5. Ocena histologiczna.....	23
3.2.6. Ocena statystyczna.....	25
4. Wyniki.....	27

4.1. Wynik badania histopatologicznego - ocena standardowa.....	27
4.2. Poszerzona ocena badania histopatologicznego.....	29
4.2.1. Głębokość inwazji nacieku nowotworowego.....	29
4.2.2. Wzór naciekania.....	38
4.2.3. Naciekanie nerwów.....	44
4.2.3.1. Zróżnicowanie guza – G (Grading).....	45
4.2.3.2. Marginesy chirurgiczne.....	47
4.2.3.3. Zaawansowanie narządowe guza – cecha T.....	49
4.2.3.4. Okres do wznowy.....	50
4.2.3.5. Wiek chorych.....	51
4.2.4. Naciekanie naczyń.....	51
4.2.4.1. Zaawansowanie narządowe guza – cecha T.....	51
4.2.4.2. Zaawansowanie przerzutów do węzłów chłonnych – cecha N.....	53
4.2.4.3. Histologiczne zróżnicowanie raka- G (Grading).....	54
4.2.4.4. Głębokość inwazji.....	54
4.2.4.5. Marginesy chirurgiczne.....	54
4.2.4.6. Wzór naciekania.....	55
4.2.4.7. Okres wolny od wznowy miejscowej (disease-free survival).....	55
4.2.5. Naciekanie mięśni.....	55
4.2.5.1. Zaawansowanie narządowe guza - cecha T.....	55
4.2.5.2. Przerzuty do węzłów chłonnych - cecha N.....	57
4.2.5.3. Głębokość inwazji.....	58
4.2.5.4. Wzór naciekania i inwazyjny front raka.....	59
4.2.5.5. Margines chirurgiczny.....	60
4.2.5.6. Okres wolny od wznowy miejscowej (disease-free survival).....	60
4.2.6. Korelacja cech: naciekanie naczyń, nerwów i mięśni.....	60
4.3. Leczenie uzupełniające - radioterapia.....	67
4.4. Wznowa miejscowa.....	68
4.5. Grupa kontrolna.....	68

5. Dyskusja.....	71
5.1. Margines chirurgiczny.....	71
5.2. Wzór inwazji nowotworowej we froncie naciekania.....	72
5.3. Głębokość nacieku guza.....	75
5.4. Zróżnicowanie komórek guza.....	76
5.5. Naciekanie naczyń.....	77
5.6. Naciekanie nerwów.....	78
5.7. Korelacja naciekania naczyń, nerwów i mięśni ze wznową miejscową.....	78
6. Wnioski.....	81
7. Streszczenie .....	82
8. Summary.....	84
9. Spis tabel i rycin.....	86
8. Piśmiennictwo.....	89

### Wykaz skrótów stosowanych w tekście

NCI	- NARODOWY INSTYTUT RAKA (ANG. NATIONAL CANCER INSTITUTE)
SEER	- (ANG.) SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGY AND END RESULTS
WHO	- ŚWIATOWA ORGANIZACJA ZDROWIA (WORLD HEALTH ORGANIZATION)
HPV	- WIRUS BRODAWCZAKA LUDZKIEGO (ANG. HUMAN PAPILOMA VIRUS)
IARC	- AGENCJA BADAŃ NAD RAKIEM ((ANG)AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER)
CUP	- PRZERZUT Z NIEZNANEGO OGNISKA PIERWOTNEGO ((ANG.) CARCINOMA OF UNKNOWN PRIMARY)
CAP	- KOLEGIUM PATOLOGÓW AMERYKAŃSKICH ((ANG.) COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS)
G	- STOPIEŃ ZRÓŻNICOWANIA HISTOLOGICZNEGO ((ANG.) GRADING)
P53	- BIAŁKO P53 – CZYNNIK TRANSKRYPCYJNY O WŁASNOŚCIACH SUPRESORA NOWOTWOROWEGO
WSP.	- WSPÓŁPRACOWNICY
TNM	- MIĘDZYNARODOWA KLASYFIKACJA STOPNIA ZAAWANSOWANIA NOWOTWORÓW ZŁOŚLIWYCH
rT	- ZAAWANSOWANIE NARZĄDOWE WZNOWY GUZA ((ANG.) RECURRENCE TUMOR)
cT	- KLINICZNE ZAAWANSOWANIE NARZĄDOWE GUZA ((ANG.) CLINICAL TUMOR)
ET AL.	- I WSPÓŁPRACOWNICY
DS	- ODCHYLENIE STANDARDOWE
UICC	- UNIA NA RZECZ MIĘDZYNARODOWEJ KONTROLI RAKA ((ANG.) UNION FOR INTERNATIONAL CANCER CONTROL)
USG	- BADANIE ULTRASONOGRAFICZNE

OR	- ILORAZ SZANS (ODDS RATIO)
RS	- LINIOWA ZALEŻNOŚĆ
GRADE	- GRADING OF RECOMMENDATIONS ASSESSMENT, DEVELOPMENT AND EVALUATION
EBM	- MEDYCYNA OPARTA NA FAKTACH ((ANG.) EVIDENCE- BASED MEDICINE

# 1. WSTĘP

Raki płaskonabłonkowe (carcinoma planoepitheliale) regionu głowy i szyi stanowią bardzo różnorodną grupę. Pierwotnie nowotwory wywodzą się najczęściej z nabłonka wielowarstwowego płaskiego górnego odcinka drogi oddechowej i pokarmowej.

## 1.1 Epidemiologia

Rak jamy ustnej i gardła środkowego jest najczęstszym, po guzach krtani, nowotworem złośliwym regionu głowy i szyi w Polsce. Rocznie na świecie odnotowuje się 263 900 nowych przypadków raków jamy ustnej, co stanowi 2% nowych, zdiagnozowanych raków [1, 2]. Najczęściej, bo aż w 40% przypadków, nowotwory złośliwe jamy ustnej zlokalizowane są na języku [3]. Znaczna większość z nich to raki płaskonabłonkowe. 5-letni czas przeżycia uzależniony jest od lokalizacji guza i dla jamy ustnej wynosi średnio 51% (tab. I).

Tabela I. Odsetek 5-letniego przeżycia w określonych lokalizacjach regionu głowy i szyi [cyt. za 83]

Lokalizacja	5-letni okres przeżycia (%)
Warga	93
Krtań	65
Jama ustna	51
Język	49
Gardło środkowe	44
Gardło dolne	19

Wieloośrodkowe badania epidemiologiczne ostatnich 3 dekad, począwszy od roku 1975, prowadzone przez: NCI (National Cancer Institute), SEER (Surveillance Epidemiology and End Results) oraz WHO (World Health Organization), potwierdzają wzrost zachorowalności na nowotwory jamy ustnej. Obserwuje się coroczny wzrost zachorowalności na raka części ustnej języka o 2,1%, nasady języka o 1,7% oraz raka migdałków podniebiennych o 3,9%. Zwraca uwagę znaczny wzrost liczby nowych



zachorowań wśród grupy chorych między 20. a 44. r.ż.- tzw. młodych dorosłych. Jednocześnie, zarówno w Stanach Zjednoczonych, jak i w Europie, obserwuje się stały spadek zachorowań na raka innych lokalizacji regionu głowy i szyi [4]. Średnia zapadalność na nowotwory złośliwe języka na świecie według NCI wynosi 2,9, a dla dna jamy ustnej 0,5 na 100 tys. Większość, bo aż 2/3 guzów języka lokalizuje się w części ustnej, natomiast 1/3 wyrasta z nasady języka. Według różnych autorów, od 55 do 70% guzów zlokalizowanych w trzonie, usytuowanych jest na brzegu języka [5]. Zauważa się również wyraźne zróżnicowanie pod względem zachorowalności związane z płcią. Wśród mężczyzn rak języka występuje ok. 2,5 razy częściej (4,2 na 100 tys.) niż wśród kobiet (1,7 na 100 tys.).

## **1.2. Czynniki ryzyka**

Częstość występowania zmian w obrębie różnych obszarów języka może wynikać z narażenia tych okolic na różne czynniki kancerogenne. Około 75% raków głowy i szyi jest związanych z narażeniem na dwa najczęstsze czynniki ryzyka: palenie tytoniu i nadużywanie wysokoprocentowego alkoholu. Ryzyko wystąpienia nowotworu złośliwego jamy ustnej wzrasta 6-7 – krotnie wśród osób nadużywających alkoholu lub palących tytoń i aż 15 - krotnie – a według niektórych autorów nawet 17 - krotnie - wśród osób jednocześnie palących i pijących. Częstym czynnikiem, mającym wpływ na rozwój guza, szczególnie dostrzegalnym w krajach rozwijających się, jest zwyczaj żucia betelu. Bezpośredni kontakt betelu z błoną śluzową policzków, wyrostka zębodołowego żuchwy i szczęki, dna jamy ustnej oraz brzegu języka, ma wpływ na rozwój raka. Są to okolice mające bezpośredni kontakt z substancją toksyczną, która drażniąc i wywołując stan zapalny wpływa na powstanie nowotworu.

Innymi czynnikami ryzyka są: wiek, rasa, brak higieny jamy ustnej, drażnienie błony śluzowej (np. poprzez źle dopasowane protezy, nieleczone stany zapalne), narażenie na pył drzewny [1, 6], węglowy, nikiel, substancje używane w przemyśle tekstylnym i podczas obróbki skóry [7].

Predyspozycje do rozwoju choroby nowotworowej w regionie głowy i szyi mogą być dziedziczne. Do wrodzonych chorób, którym towarzyszy podwyższone ryzyko rozwinięcia raka, należą: wrodzona postać niepolipowatego raka jelita grubego, zespół Li-Fraumeni, zespół ataksja-teleangiectazja oraz anemia Fanconiego [8].

Czynniki ryzyka mogą być przyczyną dyskretnych, powierzchniowych zmian w błonie śluzowej. Po raz pierwszy tego typu zmiany błony śluzowej wokół guza jamy ustnej zostały opisane przez Slaughter'a w 1950 r. [9], który odkrył, że błona śluzowa górnego odcinka przewodu pokarmowego i dróg oddechowych - poza ogniskiem guza rozpoznany w badaniu klinicznym i potwierdzonym w badaniu histologicznym - prezentuje wieloogniskowe zmiany na poziomie molekularnym, o cechach zmian przednowotworowych. Typowymi, powszechnie uznanymi zmianami przednowotworowymi w obrębie błony śluzowej, są leukoplakia i erytroplakia.

W ostatnich latach pojawia się coraz więcej doniesień potwierdzających związek infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV - Human Papilloma Virus) z rozwojem raka głowy i szyi. Najczęściej występującym onkogennym typem wirusa w tej okolicy jest typ 16 i nieco rzadziej 18. Ponieważ wirus jest również czynnikiem sprawczym, wywołującym zajęcie narządów rodnych (np. kłykciny kończyste), może być przenoszony na drodze oralnych kontaktów seksualnych. Chociaż infekcja HPV jest najsilniej związana z rozwojem raka gardła środkowego, a szczególnie migdałków podniebiennych, to zauważalny jest wyraźny związek z kancerogenezą w obrębie błony śluzowej jamy ustnej, a więc języka i dna jamy ustnej [8, 10, 11, 12, 13, 14]. Według International Agency for Research on Cancer (IARC) wirus HPV występuje w 3,9% guzów jamy ustnej i 18,3% guzów gardła środkowego [15]. Dahlgren i wsp. [16] podają częstość występowania HPV w obrębie tkanki guza ustnej części języka na poziomie 2%. Za część ustną, czyli ruchomą języka, uznawane jest 2/3 przednie, z wyłączeniem nasady języka. Natomiast metaanaliza wielu badań przeprowadzonych wielośrodkowo na stosunkowo licznej grupie 5046 pacjentów wskazuje na wysoką 24% obecność HPV w guzach zlokalizowanych w ruchomej części języka [17]. Skrajnie wysoką częstość występowania wirusa HPV w guzach języka rozpoznali Da Silva i wsp. [18], u których w badanej grupie chorych odsetek

ten wyniósł aż 74% przypadków. Różnica wyników pomiędzy guzami HPV+ i HPV- w obrębie jamy ustnej może być efektem włączenia do badań raków o różnej lokalizacji, w tym również nasady języka, która anatomicznie należy do gardła środkowego. Badając epidemiologię, występowanie i biologię guzów jamy ustnej, powinno się rozważać wyłącznie guzy części ustnej języka z wyłączeniem nasady języka.

Uznanymi czynnikami ryzyka wśród raków HPV+ są zachowania seksualne [19, 20]. Potwierdzono ponadto, że jest to groźniejszy czynnik ryzyka niż tytoń i alkohol. Ryzyko zachorowania na raka głowy i szyi u pacjentów HPV+ wzrasta wraz z liczbą oralnych kontaktów seksualnych, występowaniem kłykcin kończystych narządów płciowych oraz obniżeniem wieku pierwszego kontaktu seksualnego [19, 21, 22]. Ponadto uważa się, że w przypadku nowotworu o nieznanym ognisku pierwotnym (CUP - Carcinoma of Unknown Primary) potwierdzenie obecności HPV w tkance z guza szyi może wskazywać na pierwotne miejsce wyjścia raka [23, 24].

### **1.3. Rokowanie w raku jamy ustnej - języka i dna jamy ustnej**

5-letni czas przeżycia dla raków jamy ustnej w ostatnich dekadach utrzymuje się na względnie stałym poziomie i wynosi ok. 50% [3, 25, 26]. Celem wielu prowadzonych badań jest odnalezienie histologicznych cech, które pozwoliłyby na dokładniejszą ocenę rokowania, co w konsekwencji umożliwiłoby precyzyjny dobór terapii i leczenia uzupełniającego [27]. Oszacowanie rokowania w onkologii zawsze wiąże się z występowaniem czynników prognostycznych, wpływających na podwyższenie ryzyka wystąpienia wznowy miejscowej lub wystąpienia przerzutów regionalnych i odległych. Częstość wznowy miejscowej raka języka i dna jamy ustnej wg różnych źródeł wynosi od 19 do 48% [28, 29]. Wiele projektów badań powstało z myślą o obniżeniu ryzyka wystąpienia wznowy miejscowej. Przedmiotem tych badań często był margines chirurgiczny wokół resekowanego guza. Celem ułatwienia komunikacji pomiędzy chirurgiem a patologiem wyodrębniono marginesy: dodatni - gdy linia cięcia chirurgicznej resekcji przebiega w obrębie nacieku, wąski - do 5mm od granicy guza i ujemny - powyżej 5 mm [30, 31].

Guzy okolicy języka i dna jamy ustnej cechują się agresywnym wzrostem. Ze względu na bardzo nieregularny i cechujący się palczastymi wypustkami brzeg guza, nazywany frontem naciekania, są nowotworami trudnymi do radykalnej resekcji. Stosunkowo długie i wąskie wypustki guza, sięgające daleko w obręb zdrowej tkanki, powodują, że ujemny margines chirurgiczny jest niezwykle trudny do uzyskania. Guzy języka resekowane z marginesem wąskim lub dodatnim są często przyczyną wznowy miejscowej, a także przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych. Niestety, ciągle częściej uzyskiwane są marginesy bliskie i dodatnie niż ujemne [30, 31, 32].

Bardzo istotne spostrzeżenie wniosła praca Batsaskisa i wsp. [33], w której autorzy zwrócili uwagę na fakt, że tkanka, stanowiąca margines, kurczy się (zmniejsza) podczas przygotowania do oceny histologicznej - po włożeniu do formaliny - o około 40-50%. Dlatego odległość marginesu ocenianego przez patologa nie zawsze odpowiada marginesowi uzyskanemu „in vivo” podczas usuwania guza.

Resekcja guzów języka i dna jamy ustnej wymaga od operatora dużego doświadczenia oraz odpowiedniego instrumentarium. Klasycznym i najczęściej wykorzystywanym dostępem chirurgicznym jest dostęp transoralny. Usuwanie guzów języka i dna jamy ustnej, które niejednokrotnie naciekają nasadę języka, wyrostek zębodołowy żuchwy, kąt językowo-migdałkowy lub migdałek, jest możliwe przy wyborze szerszego dostępu chirurgicznego. Taki dostęp uzyskuje się po rozszczepieniu wargi i/lub żuchwy. Dzięki możliwości wielokierunkowego ruchu w kulistym stawie skroniowo-żuchwowym możliwe jest odsunięcie rozszczepionego trzonu żuchwy i jej gałęzi ku bokowi, co daje szeroki wgląd w pole operacyjne okolicy kąta językowo-migdałkowego i nasady języka. Zdolność chirurga do uzyskania odpowiedniego marginesu jest ograniczona lokalizacją guza [34]. Niezwykle bogactwo tego regionu w ważne struktury anatomiczne skutecznie utrudnia manewry chirurgiczne. Obfita sieć naczyń krwionośnych oraz nerwów utrudnia resekcję. Dodatnie marginesy, mimo szerokiego wglądu w pole operacyjne, mogą być powodowane bliskością ważnych anatomicznie i czynnościowo struktur, jak np. nerwy, naczynia, których resekcja może znacznie obniżać jakość życia, a nawet przeżywalność chorych po zabiegu [32]. Do uzyskania ujemnych marginesów należy

jednak dążyć niezależnie od wielkości i lokalizacji guza [35]. Wolny od nacieku nowotworowego 5 mm margines chirurgiczny wokół usuniętego guza jamy ustnej, przy braku innych czynników ryzyka, pozwala na rezygnację z leczenia uzupełniającego. Decydującą rolę odgrywa obecność przerzutów do węzłów chłonnych szyi oraz naciekanie torebki węzła. Ten system był obciążony stosunkowo dużym marginesem błędu, wynikającym z subiektywnej oceny preparatu.

Poza oceną naciekania w obrębie marginesu chirurgicznego szereg badań poświęcono obecności dysplazji w obrębie linii resekcji guza. Według CAP (College of American Pathologists) z 2011 r. obecność dysplazji dużego stopnia jest jednoznaczna z dodatnim marginesem [36]. Udowodniono transformację nowotworową z dysplazji dużego stopnia i z raka „in situ” [37] oraz odkryto, że przyczyną jest mutacja genu p53 [38]. Dysplazja dużego stopnia obecna w obrębie marginesu wpływa negatywnie na prognozowane ryzyko wznowy miejscowej oraz 5-letnie przeżycia. Ponadto dysplazja dużego stopnia obecna w obszarze marginesu, szczególnie w rakach języka, według niektórych autorów jest wskazaniem do poszerzenia marginesu chirurgicznego lub uzupełniającej radioterapii [7]. Brak jest porównywalnych wyników wśród grupy chorych, u których stwierdzono dysplazję średniego i niskiego stopnia. W tej grupie chorych bardzo rzadko chirurg decyduje o poszerzeniu marginesu, stąd brak wyników histologicznych korelujących z przeżywalnością. Najczęstszym postępowaniem jest obserwacja, a czas przeżycia chorych jest porównywalny z chorymi, u których stwierdzono ujemny margines chirurgiczny [39].

#### **1.4. Przegląd piśmiennictwa dotyczący oceny złośliwości guza - badania histopatologiczne**

Różnorodność linii frontu naciekania guza sprawia, że informacja, jaką otrzymujemy od patologa w standardowym wyniku pooperacyjnym, ograniczona jedynie do rodzaju raka i oceny zróżnicowania komórek guza, jest niewystarczająca. Chirurg – klinicysta, otrzymując wynik badania histologicznego, oczekuje poza rozpoznaniem

rodzaju raka więcej informacji o cechach jego złośliwości, co pozwoliłoby ocenić agresję nacieku i rokowanie.

Najstarszą metodą klasyfikacji złośliwości raka jest skala Brodersa, sięgająca roku 1939 [40]. Pierwotnie metoda ta dotyczyła raka krtani, ale powszechnie stosowana była do klasyfikacji raków o różnej lokalizacji. Metoda ta próbowała określić stopień złośliwości guza (gradeing), ocenić stosunek liczby komórek atypowych do nieprezentujących cech atypii. W skali Brodersa wyróżniano IV stopnie (tab. II). Ten system był obarczony stosunkowo dużym marginesem błędu, wynikającym z subiektywnej oceny preparatu.

Tabela II. Skala Brodersa

Stopień	Zakres
I°	<25% komórek typowych
II°	25-50% komórek atypowych
III°	50-75% komórek typowych
IV°	75-100% komórek atypowych

Kolejną historyczną metodą oceny złośliwości guza, stosowaną w latach 70., był system punktowy Jakobssona [41]. Klasyfikację oparto na weryfikacji 8 histologicznych cech.: 4 z nich dotyczą utkania tkanki guza, a kolejne 4 charakteryzują relację między tkanką guza a zdrową tkanką otaczającą ognisko raka. Do czynników rokowniczych, od których zależy 5-letnie przeżycie, Jakobsson zaliczał m.in.: typ inwazji i polimorfizm jąder. Pacjenci, którzy w ocenie tej skali otrzymali liczbę punktów od 10 do 15, cechowali się niską złośliwością guza i u nich rzadko obserwowano wznowy miejscowe, co wpływało na dobre rokowanie. Natomiast u chorych, u których uzyskano łączną sumę punktów między 16 a 28, wznowa miejscowa występowała z częstością od 20 do 29%.

W kolejnych dziesięcioleciach zauważono różnice w utkaniu guza na obwodzie i w centrum [42, 43, 44]. Dzięki temu odkryciu znaleziono wytłumaczenie dla różnic w wynikach z wycinka pobranego celem diagnostyki przed zabiegiem w porównaniu do rozpoznania postawionego po ocenie materiału pooperacyjnego. Niezwykle istotna okazała się ta informacja dla chorych leczonych z użyciem radioterapii, u których

rozpoznanie i decyzja o leczeniu opiera się wyłącznie na ocenie histologicznej wycinka z guza.

W ocenianych preparatach mogą występować artefakty, wynikające ze sposobu utrwalania i przygotowania preparatu, jak również ze sposobu pobierania wycinków. Fragment guza może być pobrany do oceny histologicznej w biopsji cienko lub gruboigłowej. Większy fragment guza pobierany jest podczas klinowej biopsji chirurgicznej, a najwięcej materiału do oceny histologicznej dostarcza radykalna resekcja. Dlatego poszukiwano dokładniejszych metod oceny złośliwości raka.

W roku 1984 Glanz [45] przedstawił inny system punktowy, oceniający: naciekanie naczyń i nerwów, stopień dojrzałości guza oraz komórkową odpowiedź chorego. Każdy parametr oceniano w skali 3-punktowej, a łączna liczba zebranych punktów obrazowała stopień złośliwości guza.

W 1990r. Crissman i Zarbo [42] zaproponowali kolejny system klasyfikacji histologicznej, uwzględniający 7 parametrów ocenianych w skali 4-punktowej. Weryfikowanymi cechami były: sposób naciekania nowotworowego (polegający głównie na ocenie naciekania naczyń), stopień rogowacenia, nasilenie zmian w jądrach komórek (polimorfizm), liczbę mitoz, obecność nacieków limfocytarnych oraz występowanie desmoplazji.

Najnowszą metodą oceny agresywności nacieku raka we froncie guza jest klasyfikacja zaproponowana przez M. Brandwein-Gensler [30,59]. Jest to 5-stopniowa skala, oceniająca front naciekania raka. Stopień 1. cechuje się zwartą powierzchnią guza, z wyraźną, tępą granicą. W 2. typie naciekania widoczne są duże, szerokie, palcowate wypustki, pozostające w bezpośrednim kontakcie z główną masą guza, czasami tylko izolowane oraz stosunkowo duże, gwiazdowate wyspy. Dla 3. wzoru naciekania typowe są wyspy komórek oddzielone od masy guza, ale składające się z więcej niż 15 komórek raka. 4. wzór naciekania cechują: długie, cienkie wypustki o szerokości zaledwie jednej komórki oraz wyspy składające się z mniej niż 15 komórek raka. 5. wzór inwazji jest jednoznaczny z bardzo wysoką złośliwością guza oraz wysokim ryzykiem wznowy. Ten wzór inwazji

charakteryzują samodzielnie występujące gniazda komórek raka wielkości 1 mm lub większe.

### **1.5. Wznowa miejscowa raka języka i dna jamy ustnej**

Dane kliniczne korelujące z wznową miejscową guzów języka i dna jamy ustnej są częściej opisywane w literaturze niż odpowiedzialne za to cechy histologiczne [51]. Przyjmuje się, że 68% wznów miejscowych występuje w pierwszych dwóch latach od leczenia [27]. Kernohan i wsp. [52] wykazali, że mimo radykalnej chirurgii ratującej - a więc zabiegu usunięcia wznowy w przypadku niepowodzenia leczenia pierwotnego - druga wznowa miejscowa występuje aż w 80% przypadków. Pomimo że kolejny zabieg chirurgiczny, a szczególnie chirurgia ratująca, jest zawsze operacją o szerszym zakresie niż poprzednia, częstość występowania ponownej wznowy jest bardzo wysoka. Duży stopień zaawansowania guza w przypadku wznowy jest bardzo złym czynnikiem prognostycznym. Rokowanie u tych chorych jest znacznie gorsze niż wśród chorych o takim samym zaawansowaniu zmiany pierwotnej [53].

Stosunkowo precyzyjnym i cennym czynnikiem prognostycznym jest okres wolny od wznowy. Jest to okres mierzony od leczenia zmiany pierwotnej do momentu wystąpienia wznowy miejscowej. Znacznie lepsze rokowanie potwierdzono wśród grupy chorych, u których wznowa wystąpiła powyżej 12 miesięcy [54, 55]. Przeżycia pięcioletnie wśród chorych, u których wznowa wystąpiła po 6 miesiącach, są znacznie krótsze w porównaniu do grupy chorych, u których wznowa wystąpiła później [29].

Złośliwość nowotworu wzrasta wraz z jego polimorfizmem [56]. Wielu autorów podkreśla, że bardzo istotna jest ocena frontu naciekania guza [42, 57]. Jest to brzeg guza, czyli granica pomiędzy naciekiem nowotworowym a tkanką zdrową. Aby dokładnie ocenić margines chirurgiczny w badaniu histologicznym, należy jednoznacznie ocenić brzeg-front naciekania guza. Im dalej guz wnika swoimi wypustkami w tkankę zdrową, otaczającą guz, tym złośliwość nowotworu jest wyższa. W przypadku raków języka front naciekania guza jest zwykle bardzo nieregularny, co świadczy o agresywności tych nowotworów. Ravasz



i wsp. [58] opisywał sposoby naciekania guza, a M. Brandwein-Gensler i wsp. [59] zaproponowali 5-stopniową skalę oceny frontu guza. Zwrócenie uwagi na ocenę frontu naciekania guza, szczególnie w przypadku raka języka, może mieć kluczowe znaczenie w prognozowaniu 5-letniego przeżycia.

### **1.6. Wznowa regionalna - przerzuty do węzłów chłonnych szyi**

Na przestrzeni ostatnich dziesięcioleci opracowano kilka klasyfikacji, w których podjęto próbę oceny złośliwości i agresywności rozwoju raka. Niektóre cechy guza w kolejnych badaniach powtarzają się. Najczęściej powtarzającymi się cechami są typ wzrostu guza i ocena frontu naciekania. Endofityczny, naciekający wzrost guza, częściej niż egzofityczny koreluje z występowaniem przerzutów do węzłów chłonnych, co znacznie pogarsza rokowanie. Ponadto grubość zmiany i głębokość naciekania guza oraz inwazja naczyń są uznanymi czynnikami ryzyka wystąpienia przerzutów [46]. Inwazja naczyń, a szczególnie wnikanie komórek raka przez ścianę endotelium do światła naczynia, w znacznym stopniu ułatwia przerzutowanie, zarówno drogą naczyń krwionośnych, jak i limfatycznych.

Niektóre z badanych cech - jak np. głębokość nacieku - wyraźnie związane są ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia przerzutów i zostały uznane za wskazanie do elektywnej operacji układu chłonnego szyi, towarzyszącej resekcji zmiany pierwotnej. Davidson i wsp. podają, że głębokość inwazji powyżej 3 mm oraz naciek na mięśnie, stopień zaawansowania narządowego (cecha T) i stopień zróżnicowania (G) wyraźnie wpływają na wystąpienie wznowy miejscowej oraz przerzutów do węzłów chłonnych [47]. Według Fukano i wsp. [48], wznowa węzłowa wyraźnie częściej występuje, gdy głębokość nacieku przekracza 5 mm. Złe rokowanie, wynikające z wystąpienia przerzutów do węzłów chłonnych szyi, zauważyli na dużej grupie chorych Sparano [49] oraz Keski-Santi [50]. Niezależnie od siebie stwierdzili, że cechami sprzyjającymi wystąpieniu przerzutów są: wiek, płeć, zaawansowanie guza - T oraz klinicznie potwierdzona obecność węzłów - cN, dodatni margines chirurgiczny, głębokość inwazji nacieku, stopień zróżnicowania guza, inwazja naczyń chłonnych i nacieki okołonерwowe. Ponadto, Sparano [49] zauważył

również zależność występowania przerzutów z niskim stopniem zaawansowania guzów T1 i T2. Występowanie przerzutów u chorych z guzami o niskim zaawansowaniu niesie za sobą bardzo ważne implikacje kliniczne. Poznanie złośliwości nacieku guza o niskim zaawansowaniu cechy T pozwala podjąć trudną decyzję o operacji elektywnej węzłów chłonnych N0.

Aby jednoznacznie zbadać cechy proponowane w różnych klasyfikacjach, niezbędne jest duże doświadczenie patologa oceniającego preparaty. Celem ułatwienia i ujednoczenia oceny histologicznej nieustannie dąży się do standaryzacji badań i opracowania bardziej obiektywnych metod oceny. Różnorodność cech histologicznych guza, świadczących o jego złośliwości, wprowadza chaos i wydłuża badanie histopatologiczne. Odnalezienie korelacji pomiędzy kilkoma wybranymi cechami histologicznymi a przebiegiem klinicznym pozwoli na standaryzację leczenia, dokładniejsze określenie rokowania i właściwy wybór terapii.

## 2.CEL PRACY

### 2.1. Cele ogólne

Celem pracy jest odpowiedź na pytanie dlaczego, pomimo - radykalności leczenia chirurgicznego i leczenia uzupełniającego radio- lub radio chemioterapeutycznego - w tak dużym odsetku przypadków występują wznowy miejscowe raka języka i dna jamy ustnej.

### 2.2. Cele szczegółowe

- Poszerzona ocena histologiczna guza pierwotnego, u chorych, u których wystąpiła wznowa miejscowa.

- Określenie naciekania naczyń, mięśni i pni nerwowych w obrębie guza pierwotnego.

- Ocena korelacji pomiędzy naciekaniem określonych struktur a cechami klinicznymi nowotworu.

- Wyselekcjonowanie cech histologicznych, których obecność może mieć wpływ na wystąpienie wznowy miejscowej i rokowanie oraz przeżycie chorych.

## 3. MATERIAŁ I METODY

### 3.1. Materiał

#### 3.1.1. Chorzy - grupa badana

Badaniem objęto grupę 50 chorych, u których wystąpiła wznowa miejscowa raka płaskonabłonkowego (carcinoma planoepitheliale) języka i dna jamy ustnej. Chorych wyłoniono spośród 266 operowanych w latach 2007-2016 w Klinice Chirurgii Głowy, Szyi i Onkologii Laryngologicznej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, w Wielkopolskim Centrum Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie. 36 chorych (72%) stanowili mężczyźni, a 14 (28%) kobiety. Średnia wieku wszystkich chorych w dniu rozpoznania choroby wynosiła 57,18 lat. Natomiast średnia wieku mężczyzn wynosiła 54,50, a kobiet 64,07 lat. Najmłodszym pacjentem był 35-letni mężczyzna, a najstarszym również mężczyzna w wieku 81 lat. 7 chorych (14%) nie przekroczyło 50. roku życia (tab. III)

Tabela III. Wiek chorych ze wznową raka języka i dna jamy ustnej

Średnia( $\bar{x}$ ) wieku (lata)	Wznowa	Płeć	Liczba chorych	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe (SD)
54,50	Tak	Mężczyzna	36	35,00	81,00	9,66
64,07	Tak	Kobieta	14	53,00	79,00	8,65

Wszyscy chorzy pierwotnie zostali poddani leczeniu chirurgicznemu. Wykluczono pacjentów wcześniej leczonych radio- lub chemioterapeutycznie. Do badania nie włączono guzów, które ze względu na zaawansowanie procesu nowotworowego nie mogły być operowane radykalnie oraz pacjentów, u których wykonano jedynie cytoredukcję guza. Ponadto wykluczono chorych, u których wykonano zabiegi chirurgii ratującej oraz chorych, u których zabieg był poszerzeniem nieradykalnego zabiegu.

### **3.1.2. Chorzy - grupa kontrolna**

Grupa kontrolna składała się z 10 losowo wybranych osób z guzem języka lub dna jamy ustnej, leczonych pierwotnie chirurgicznie, z następową uzupełniającą radio-(chemio)terapią, u których uzyskano całkowite wyleczenie i nie wystąpiła wznowa choroby nowotworowej. W standardowym badaniu histologicznym w 8 na 10 przypadkach określono raka płaskonabłonkowego rogowaciejącego (łac. carcinoma planoepitheliale keratodes), w pozostałych 2 przypadkach raka płaskonabłonkowego nierogowaciejącego (łac. akeratodes).

Przedział wiekowy chorych był porównywalny do grupy, w której wystąpiła wznowa i wynosił od 45 do 83 lat, średnia wieku - 53,68 lat (SD: 2,61). Najkrótszy okres obserwacji wynosił 2 lata. W badanej grupie znalazło się 6 kobiet i 4 mężczyzn, których średnia wieku wynosiła odpowiednio: 63,50 i 61,50 lat.

## **3.2. Metody**

### **3.2.1. Badanie kliniczne**

W określeniu stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu posłużono się klasyfikacją TNM (UICC VII edycja). Zaawansowanie choroby nowotworowej oceniano przed zabiegiem usunięcia guza pierwotnego oraz ponownie po wystąpieniu wznowy miejscowej.

### **3.2.2. Badanie obrazowe**

Kwalifikując chorego do zabiegu operacyjnego, w każdym przypadku wykonywano tomografię komputerową z dożylnym podaniem środka kontrastowego, a w wybranych przypadkach rezonans magnetyczny. Standardowo u wszystkich operowanych chorych wykonywano badanie ultrasonograficzne szyi celem oceny układu chłonnego. W przypadku mniejszych guzów, rosnących powierzchownie lub podśluzówkowo w jamie ustnej, celem dokładniejszej oceny posłużono się usg endooralnym z wykorzystaniem konweksowej głowicy palcowej. Badanie usg wykorzystywano również śródoperacyjnie celem precyzyjnej oceny granicy guza.

### **3.2.3. Ocena wznowy miejscowej**

Wznowę miejscową różnicowano z drugim ogniskiem pierwotnym (Second Primary Tumor), stosując kryteria S. Warren i O. Gates [60, 61]. Za wznowę miejscową uznawano zmianę o typie histologicznym podobnym do zmiany pierwotnej, guz występujący w czasie 3 lat od rozpoznania guza pierwotnego oraz guzy zlokalizowane w odległości mniejszej niż 2 cm od ogniska pierwotnego.

### **3.2.4. Przygotowanie materiału do badań histologicznych**

Bezpośrednio po resekcji guza oznaczano marginesy preparatu przy użyciu nici chirurgicznych celem dokładnej orientacji anatomicznej guza. W pierwszym etapie oceny histologicznej materiału tkankowego wykonywano badanie śródoperacyjne w celu określenia marginesów chirurgicznych i radykalności zabiegu. Tkankę do badania marginesów pobierano z wykorzystaniem dwóch metod. Pierwszą - starszą historycznie metodą - było pobieranie wycinków z łoży po usuniętym guzie. Tę metodę stosowano w sporadycznych przypadkach. Materiał z łoży po usuniętym guzie był pobierany przez chirurga. Drugą, preferowaną metodą, była śródoperacyjna ocena marginesów chirurgicznych, polegająca na ocenie histologicznej tkanki pobieranej z obrzeża usuniętej zmiany. W przypadkach, w których śródoperacyjnie stwierdzono dodatni margines chirurgiczny, zawsze poszerzano resekcję i ponownie oceniano materiał śródoperacyjnie. Następnie materiał tkankowy był utrwalany w 4% roztworze formaliny, buforowanym w 0,1 M buforem fosforanowym o pH 7,4.

W histologicznej ocenie marginesów chirurgicznych posłużono się 3-stopniową skalą. Wyróżniono: margines dodatni, bliski i ujemny. Margines dodatni stwierdzano wówczas, gdy naciek raka występował w linii cięcia chirurgicznego. Margines bliski rozpoznawano, gdy dystans pomiędzy frontem nacieku raka a zdrową tkanką, mierzony w milimetrach, był mniejszy niż 5 mm, ale nie stwierdzano nacieku w linii cięcia. Margines ujemny określano wówczas, gdy wynosił on więcej niż 5 mm.

Ocenę marginesów chirurgicznych przeprowadzano śródoperacyjnie na podstawie preparatów mrożonych, a następnie ponownie oceniano po utrwaleniu preparatu.

U 50 chorych, u których wystąpiła wznowa miejscowa, wykonano retrospektywnie poszerzone badanie histologiczne materiału ze zmiany pierwotnej. Badania wykonywano w oparciu o materiał pooperacyjny zgromadzony w Zakładzie Patologii Nowotworów Wielkopolskiego Centrum Onkologii, w postaci bloczków parafinowych oraz preparatów rutynowo barwionych (hematoksyliną i eozyną). Skrawki parafinowe grubości 5  $\mu\text{m}$  podlegały standardowej ocenie, polegającej na określeniu typu raka oraz stopnia zróżnicowania G. W wybranych przypadkach badanie poszerzano o pakiet badań immunohistochemicznych. Preparaty poddano jednocześnie niestandardowej- poszerzonej ocenie histologicznej, polegającej na ocenie szeregu cech świadczących o wysokiej złośliwości nacieku nowotworowego.

### **3.2.5. Ocena histologiczna**

Preparaty oceniano na podstawie wytycznych Konsensusu Patologów Brytyjskich. Poszerzone badanie histologiczne polegało na ocenie największej głębokości nacieku nowotworowego od błony śluzowej mierzonej w milimetrach. Kolejną ocenianą cechą był front raka, czyli brzeg nacieku, będący granicą pomiędzy tkanką zdrową a guzem i stanowiący margines guza. Front guza oceniano jako spoisty lub niespoisty (ang. cohesive lub noncohesive). Jeśli granica pomiędzy tkanką nowotworową a zdrową tkanką była gładka, jednolita została oceniona jako spoista (ang. cohesive), a jeśli cechowała się nierówną powierzchnią, a więc front raka był nierówny, z licznymi wypustkami, była oceniana jako niespoista (ang. noncohesive). Ponadto oceniano obecność zatorów naczyniowych z komórek nowotworowych.

Standardowe badanie histologiczne pozwalało na ocenę rodzaju nowotworu, stopień jego zróżnicowania (grading) oraz ocenę marginesów chirurgicznych. Wśród grupy chorych ze wznową przeprowadzono poszerzoną diagnostykę histopatologiczną, wykraczającą poza standard oceny badania. Badane cechy zaczerpnięto z zaleceń konsensusu patologów brytyjskich opracowanych przez Stowarzyszenie Patologów

Brytyjskich (The Royal College of Pathologists) w 2013 r. Zalecenia oceny histologicznej zostały opracowane przy współpracy i są rekomendowane przez:

- Towarzystwo Patologii Szczękowotwarzowej (The British Society for Oral and Maxillofacial Pathology (BSOMP))
- Brytyjskie Towarzystwo Onkologów Głowy i Szyi (The British Association of Head and Neck Oncologists (BAHNO)),
- Towarzystwo Otorynolaryngologów Brytyjskich (ENT-UK),
- Towarzystwo Chirurgii Szczękowotwarzowej (The British Association of Oral and Maxillofacial Surgeons),
- Brytyjskie Stowarzyszenie Rejestrów Raka (The UK Association of Cancer Registries),
- Narodowa Sieć Wywiadowcza Raka (The National Cancer Intelligence Network).

W badanej grupie oceniono następujące cechy, które według zaleceń Konsensusu mają szczególną wartość prognostyczną dla oceny ryzyka wystąpienia wznowy i planowania leczenia:

- histologiczny typ raka
- głębokość inwazji nowotworu
- stopień zróżnicowania (Grading)
- inwazyjny front raka
- wzór naciekania raka w obrębie frontu nacieku (w skali do 1 do 6)
- odległość nacieku nowotworowego od granicy resekcji chirurgicznej w obrębie błony śluzowej i oddzielnie od podłoża
- naciekanie nerwów,
- naciekanie ściany naczyń chłonnych lub krwionośnych (obecność zatorów z komórek nowotworowych w świetle naczyń).

Szczegółowej ocenie poddano naciekanie naczyń, włókien nerwowych i tkanki mięśniowej, a następnie po analizie statystycznej określono korelację tych cech.

Dokładnej analizie poddano front naciekania guza. Celem oceny agresywności nacieku nowotworowego zastosowano 5-stopniową klasyfikację zaproponowaną przez



Margaret Brandwein-Gensler [59] a dokładnie opisaną przez Kademani [62], poszerzoną wg wytycznych patologów brytyjskich do 6 stopni. Stopień 1. cechuje się zwartą powierzchnią guza, z wyraźną, tępą granicą. W 2. typie naciekania widoczne są duże, szerokie, palcowate wypustki, pozostające w bezpośrednim kontakcie z główną masą guza, czasami tylko izolowane oraz stosunkowo duże, gwiazdowate wyspy. Dla 3. wzoru naciekania typowe są wyspy komórek oddzielone od masy guza, ale składające się z więcej niż 15 komórek raka. 4. wzór naciekania cechują: długie, cienkie wypustki o szerokości zaledwie jednej komórki oraz wyspy składające się z mniej niż 15 komórek raka. 5. wzór inwazji jest jednoznaczny z bardzo wysoką złośliwością guza oraz wysokim ryzykiem wznowy. Ten wzór inwazji charakteryzują samodzielnie występujące gniazda komórek raka wielkości 1 mm lub większe. 6. Wzór inwazji- podobnie jak 5.- cechuje się wysoką złośliwością guza, a samodzielnie występujące gniazda komórek mogą być mniejsze.

### **3.2.6. Ocena statystyczna**

Parametry mierzalne takie jak wiek pacjentów, głębokość inwazji, odległość nacieku raka od marginesów (błony śluzowej, podłoża) opisano średnią arytmetyczną i odchyleniem standardowym, medianą oraz pomiarem minimalnym i maksymalnym. Sprawdzone zgodność z rozkładem normalnym testem Shapiro-Wilka. Do porównania dwóch grup, gdy potwierdzono zgodność z rozkładem normalnym, zastosowano test t-studenta w modelu zmiennych niezależnych. Gdy nie potwierdzono zgodności z rozkładem normalnym zastosowano test nieparametryczny Manna-Whitney'a. Test Manna – Whitney'a użyto również do porównania parametrów takich jak zróżnicowanie G oraz cecha T.

Parametry wyrażone na skali nominalnej – kategoryjne - opisano liczbą pacjentów w poszczególnych grupach i wyznaczono odpowiadające im wartości procentowe. Zależność tych parametrów badano stosując test dokładny Fishera.

Dla czynników ryzyka wyznaczono ilorazy szans z 95% przedziałami ufności przy pomocy regresji logistycznej.

Hipotezy statystyczne weryfikowano na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

Obliczenia wykonano przy pomocy pakietu statystycznego StatSoft, Inc. (2014).  
STATISTICA (data analysis software system), v 12. oraz MedCalc Software .

## 4. WYNIKI

W latach 2007-2016 w Klinice Chirurgii Głowy, Szyi i Onkologii Laryngologicznej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu w Wielkopolskim Centrum Onkologii operowano 266 chorych z powodu raka płaskonabłonkowego języka i dna jamy ustnej. U 50 chorych rozpoznano wznowę miejscową raka. Wśród grupy chorych z rozpoznaną wznową miejscową przeprowadzono poszerzone badanie histologiczne.

### 4.1. Wynik badania histopatologicznego - ocena standardowa

Standardowe badanie histologiczne obejmuje ocenę rodzaju nowotworu, stopień jego zróżnicowania (G czyli Grading) oraz ocenę marginesów chirurgicznych i stanowi podstawowe minimum informacji, pozwalające podjąć decyzję co do dalszego leczenia pacjenta.

U wszystkich chorych włączonych do badania rozpoznano inwazyjnego raka płaskonabłonkowego (łac. carcinoma planoepitheliale invasivum). W zmianie pierwotnej u 44 chorych (88%) stwierdzono raka z cechami rogowacenia (keratodes), a u 6 rozpoznano raka nierogowaciejącego (akeratodes), co odpowiednio stanowiło 12% grupy badanej.

W ocenianej grupie chorych guz pierwotny cechował się najczęściej drugim stopniem zróżnicowania. Zaawansowanie G2 stwierdzono u 25 chorych, co stanowiło połowę badanej grupy. Najmniejszą grupę stanowiły guzy o wysokim stopniu zróżnicowania G1. Liczebność tej grupy wynosiła zaledwie 5 chorych, co stanowiło 10% wszystkich rozpoznań. Guzów o najniższym stopniu zróżnicowania, a więc wysokiej złośliwości - G3, stwierdzono 20, co stanowiło aż 40%. Zatem chorzy, u których stwierdzono średni i niski stopień zróżnicowania (G2 i G3) stanowili zdecydowaną większość, bo aż 90% badanych przypadków.

Zaawansowanie kliniczne nowotworu, zarówno zmiany pierwotnej, jak i wznowy, oceniano stosując siódmą edycję klasyfikacji TNM dla nowotworów złośliwych, wg UICC (Union for International Cancer Control). Najczęściej rozpoznawano drugi i trzeci stopień

zaawansowania nowotworowego guza pierwotnego: T2 w 18 (36%) przypadkach i T3 w 21 (42%) przypadkach. Skrajnie zaawansowanych guzów stwierdzono mniej, to jest T1 - 6 (12%) i T4 - 5 (10%) przypadków.

Patologicznie powiększone węzły chłonne, towarzyszące zmianie pierwotnej, stwierdzono w całej badanej grupie. U wszystkich chorych przeprowadzono operację układu chłonnego szyi. Badanie histologiczne potwierdziło przerzuty do węzłów chłonnych w 36 przypadkach, co stanowiło 72% chorych. Cecha N1 po ocenie histologicznej została rozpoznana w 28 (56%), a cecha N2 w 8 (16%) przypadkach. U 14 (28%) chorych, u których wykonano elektywną operację układu chłonnego, nie stwierdzono przerzutów w usuniętych węzłach chłonnych. Nie obserwowano najwyższego zaawansowania cechy N3.

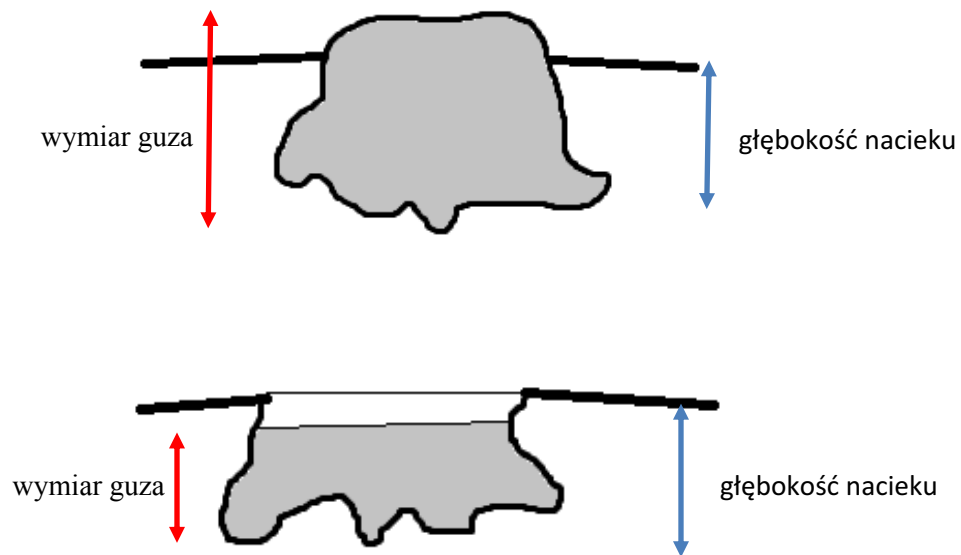
Wśród wszystkich badanych wznowę miejscową w stopniu zaawansowania rT1 i rT2 rozpoznano u 30 chorych (60%). U 11 pacjentów (22%) stwierdzono wznowę, gdy guz był wielkości do 2 cm i został zakwalifikowany do cechy rT1. Najczęściej, bo aż u 19 pacjentów (38%), wznowę rozpoznawano, gdy guz miał wymiary od 2 do 4 cm przy zaawansowaniu klinicznym rT2. Stopień wysokiego zaawansowania nowotworowego wznowy guza - rT3 - stwierdzono u 13 (26%) pacjentów, a rT4 u 7 (14%) chorych. Wysokie zaawansowanie wznowy miejscowej wynikało prawdopodobnie z braku regularnych wizyt kontrolnych. Odstępy czasowe w tych przypadkach pomiędzy wizytami kontrolnymi u chorych z dużą wznową miejscową były kilkumiesięczne, pomimo zalecanych wizyt co 4 tygodnie. W niektórych przypadkach rozpoznanie wznowy miejscowej nie było możliwe podczas badania klinicznego ze względu na lokalizację guza głęboko w tkankach, przy niezmiętej błonie śluzowej pokrywającej guz. Rozpoznanie było wówczas możliwe dopiero po wykonanym badaniu tomografii komputerowej lub rezonansu magnetycznego.

W 18 (36%) przypadkach wznowie miejscowej towarzyszyły przerzuty do węzłów chłonnych szyi. Zaawansowanie N1 odnotowano u 9 (18%), N2 u 5 (10%), a N3 u 4 (8%) chorych. Przerzuty do narządów odległych, współistniejące ze wznową miejscową, wystąpiły w 5 przypadkach (10%); były to przerzuty do płuc, wątroby, kości i śródpiersia.

## 4.2. Poszerzona ocena badania histopatologicznego

### 4.2.1. Głębokość inwazji nacieku nowotworowego

Głębokość inwazji jest jednym z najważniejszych czynników prognostycznych występowania wznowy miejscowej oraz przerzutów do węzłów chłonnych. Celem oceny tej cechy mierzone wymiar guza, od powierzchni błony śluzowej do granicy nacieku z tkanką zdrową od podłoża. W przypadku guzów z owrzodzeniem, mierzone największy wymiar inwazji (w milimetrach) od powierzchni błony śluzowej tkanek otaczających guz. Podobnie, w przypadku guzów egzofitycznych mierzone głębokość nacieku wychodzącego ponad otaczające tkanki. Wówczas wartość głębokości nacieku była mniejsza niż właściwa średnica (grubość) guza.

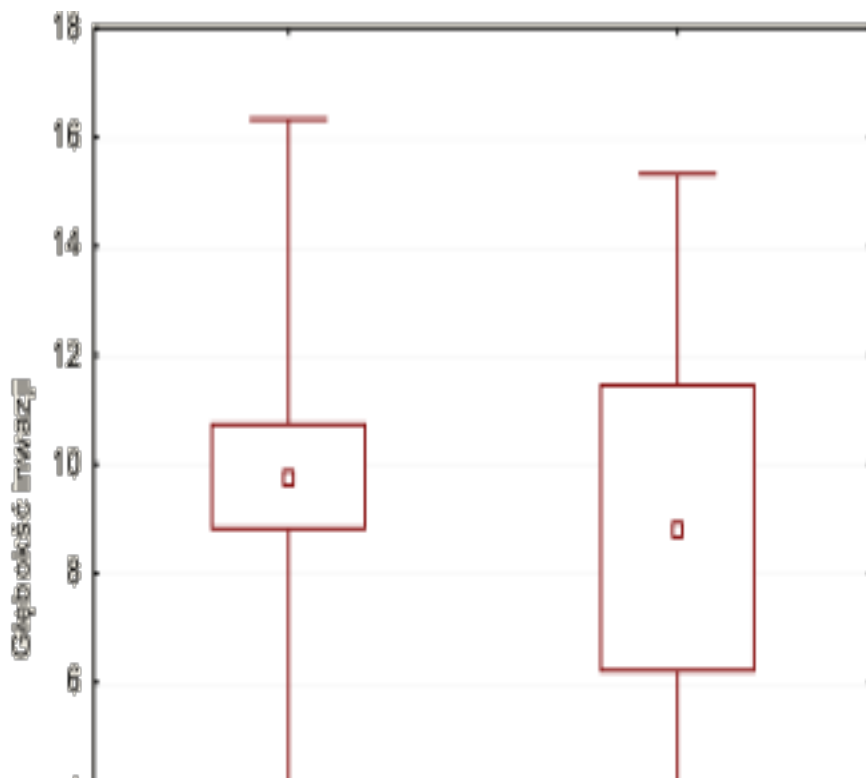


Rycina 1. Głębokość nacieku guza

W badanej grupie guzów pierwotnych głębokość nacieku wynosiła od 1 do 33 mm. Średnia wartość głębokości nacieku - 9,66 mm (mediana 8) (tab. IV). Wyższe wartości głębokości nacieku zmiany nowotworowej stwierdzono wśród mężczyzn ( $\bar{x}=10,64\text{mm}$ ), a mniejsze u kobiet ( $\bar{x}=7,14\text{mm}$ ). Głębokość nacieku nowotworowego była też znacznie wyższa wśród guzów z rozpoznaniem rakiem płaskonabłonkowym rogowaciejącym i sięgała średnio 9,77 mm. Natomiast w przypadku guzów o typie nierogowaciejącym była niższa i wynosiła średnio 8,83 mm. Stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy tymi dwiema grupami (tab. IV; ryc. 2).

Tabela IV. Głębokość nacieku raka w grupie chorych ze wznową

Średnia $\bar{x}$ głębokość nacieku (mm)	Histologiczny typ raka	Liczba chorych	Mediana	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe (SD)
9,77	Rogowaciejący (keratodes)	44	8,00	1,00	33,00	6,56
8,83	Nierogowaciejący (akeratodes)	6	7,50	3,00	20,00	6,49



Rycina 2. Zależność głębokości nacieku nowotworowego od rodzaju raka: rogowaciejącego (keratodes) i nierogowaciejącego (akeratodes) ( $p=0,63$ )

Dla guzów jamy ustnej w zaawansowaniu T1 i T2 głębokość inwazji jest potwierdzonym przez wielu autorów złym czynnikiem prognostycznym dla powstania przerzutów do węzłów chłonnych szyi. W badanej grupie chorych wartość grubości nacieku wzrastała wraz z cechą T. Przy zaawansowaniu T1 głębokość nacieku wynosiła od 1 do 13 mm ( $\bar{x}=5,66$  mm), dla T2 od 1 do 33 mm ( $\bar{x}=10,39$  mm) (tab. V).

Tabela V. Zależność głębokości naciekania guza od wielkości guza (cecha T)

Średnia $\bar{x}$ głębokość naciekania (mm)	Cecha T	Liczba chorych	Mediana	Minimum	Maksimum
5,67	1	6	5,00	1,00	13,00
10,39	2	18	9,50	1,00	33,00
9,47	3	21	9,00	3,00	19,00
12,60	4	5	11,00	4,00	30,00

W grupie chorych bez przerzutów do węzłów chłonnych stwierdzono średnią głębokość nacieku wynoszącą 9,07 mm. Natomiast w grupie chorych z przerzutami stwierdzono odpowiednio przy zaawansowaniu N1 średnią głębokość nacieku równą 9,50 mm, a przy N2 11,25 mm (tab. VI).

Tabela VI. Zależność głębokości naciekania guza od zaawansowania przerzutów do węzłów chłonnych (cecha N)

Średnia $\bar{x}$ głębokość naciekania (mm)	Cecha N	Liczba chorych	Mediana	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe SD
9,07	0	14	7,00	1,00	30,00	7,49
9,50	1	28	9,00	1,00	20,00	5,06
11,25	2	8	9,00	4,00	33,00	9,39



Brak wyraźnej zależności pomiędzy głębokością nacieku a zaawansowaniem przerzutów na szyi wynikał prawdopodobnie z wybranej grupy chorych ze wznową miejscową i duży udział w badaniu guzów o wysokim zaawansowaniu miejscowym T3 (21 chorych - 42%) i T4 (5 chorych - 10%) - łącznie aż 52% chorych.

Porównano wartość głębokości nacieku nowotworowego z zróżnicowaniem komórek guza. W grupie guzów ze zróżnicowaniem G1 średnia wartość głębokości nacieku wynosiła 8,4 mm, dla guzów G2 - 25 mm, a dla guzów G3 20 mm (tab. VII). Dodatkowo wykonano Test Kruskala-Wallisa celem oceny wartości p dla porównań wielokrotnych. Mimo że wśród guzów o zróżnicowaniu G1 głębokość inwazji była stosunkowo niska, nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy tymi grupami.

Tabela VII. Zależność głębokości naciekania guza od zróżnicowania komórek guza (G)

Średnia $\bar{x}$ głębokość naciekania (mm)	Zróżnicowanie G	Liczba chorych	Mediana	Minimum	Maksimum
8,40	1	5	7,00	4,00	13,00
8,04	2	25	7,00	1,00	20,00
12,00	3	20	11,00	1,00	33,00

Głębokość nacieku ma potwierdzony wpływ na występowanie zarówno wznowy miejscowej, jak i przerzutów do węzłów chłonnych. W przedstawionej pracy stwierdzono, że naciek o głębokości  $>4$  mm prezentuje cechy wysokiej agresji onkologicznej i koreluje z występowaniem innych niekorzystnych rokowniczo cech histologicznych. Liczba chorych, u których naciek był  $\leq 4$  mm wynosiła 11 (22%), a chorych z naciekiem  $>4$  mm stwierdzono 39 (78%). Częstość występowania cech histologicznych w zależności od głębokości nacieku raka przedstawia tabela zbiorcza VIII.

Tabela VIII. Częstość występowania cech histologicznych w zależności od głębokości nacieku nowotworowego

Cechy histologiczne	Liczba / odsetek chorych danej cechy wśród 11 (22,00%) chorych z naciekiem nowotworowym $\leq 4$ mm	Liczba / odsetek chorych danej cechy wśród 39 (78,00%) chorych z naciekiem nowotworowym $>4$ mm	Wartość p - test dokładny Fishera (dwustronny)
Histologiczny typ raka keratodes	9 81,82%	35 89,74%	
Histologiczny typ raka akeratodes	2 18,18%	4 10,26%	p=0,6014
Inwazyjny front raka (noncohesive)	6 54,55%	3 7,69%	
Nieinwazyjny front raka (cohesive)	5 45,45%	36 92,31%	p=0,0018
Margines dodatni	3 27,27%	26 66,67%	
Margines bliski lub ujemny	8 72,73%	13 33,33%	p=0,0356
Naciekanie naczyń	1 9,09%	11 28,21%	
Brak naciekania naczyń	10 90,91%	28 71,79%	p=0,2561
Naciekanie nerwów	0 0%	21 53,85%	
Brak naciekania nerwów	11 100%	18 46,15%	p=0,0012
Naciekanie mięśni	3 27,27%	31 79,49%	
Brak naciekania mięśni	8 72,73%	8 20,51%	p=0,0022

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w występowaniu zróżnicowanego typu inwazyjnego frontu nacieku nowotworowego w obu grupach. W przypadku gdy naciek nie przekraczał 4 mm grubości, stwierdzono występowanie frontu raka o spoistym, równym brzegu (ang. cohesive). Ten typ nacieku wystąpił u 6 chorych (54,55%). W tej samej grupie, gdy naciek był mniejszy niż 4 mm stwierdzono 5 przypadków (45,45%) o froncie nacieku nierównym, poszarpanym, cechującym się większą agresją onkologiczną (ang. noncohesive).

Natomiast w grupie z guzami o głębokości nacieku większej niż 4 mm stwierdzono aż 36 (92,31%) chorych o niespoistym brzegu guza („noncohesive”) i tylko 3 (7,69%) guzy o spoistym brzegu („cohesive”). Różnica pomiędzy tymi dwiema grupami była istotna statystycznie  $p=0,00179$ .

W przypadku guzów o głębokości  $\leq 4$  mm odległość nacieku od zdrowej tkanki, czyli właściwy margines chirurgiczny w obrębie błony śluzowej, średnio wynosił 3,64 mm i był znacznie większy niż w grupie guzów o grubości większej niż 4 mm, gdzie średnia wartość marginesu chirurgicznego w obrębie błony śluzowej wynosiła zaledwie 1,25 mm.

Zauważono różnicę w występowaniu marginesów ujemnych i dodatnich w obu grupach, co mogło mieć bezpośredni wpływ na występowanie wznowy miejscowej. Wśród chorych z naciekiem  $\leq 4$  mm tylko u 9% stwierdzono margines dodatni i aż u 64% margines bliski. Udział pożądanego marginesów ujemnych był stosunkowo wysoki i wynosił 27%. W grupie z naciekiem  $>4$  mm rozpoznano aż 56% marginesów dodatnich i 41% marginesów bliskich. W tej samej grupie stwierdzono zaledwie 3% marginesów ujemnych (tab. IX). Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy tymi grupami  $p=0,0015$ .

W chirurgii onkologicznej jamy ustnej a szczególnie języka i dna jamy ustnej, niezwykle trudność stwarza uzyskanie prawidłowego, ujemnego marginesu chirurgicznego od podłoża guza. Granica pomiędzy tkanką zdrową a guzem często przebiega w obrębie mięśniówki języka i w związku z tym zwykle jest zatarta i niewyraźna. Zauważono, że w przypadku guzów o głębokości  $\leq 4$  mm margines dodatni od podłoża występował częściej, bo aż w 18,18% przypadków, niż w obrębie błony śluzowej gdzie był stwierdzany tylko w

9,09%. Margines bliski występował rzadziej, bo w 54,55%. Margines ujemny stwierdzano natomiast z równą częstością – od podłoża i od błony śluzowej 27,27%.

Tabela IX. Zależność marginesów dodatnich, bliskich i ujemnych w obrębie błony śluzowej od głębokości nacieku guza

Głębokość nacieku guza ( mm)	Marginesy (liczba / odsetek chorych)			
	dodatni (błona śluzowa)	bliski (błona śluzowa)	ujemny (błona śluzowa)	Razem
≤4	1 9,09%	7 63,64%	3 27,27%	11 100%
>4	22 56,41%	16 41,03%	1 2,56%	39 100%
Razem	23 46%	23 46%	4 8%	50 100%

Odwrotną zależność zaobserwowano w grupie chorych z naciekiem o głębokości >4 mm. Margines dodatni od podłoża występował rzadziej (38,46%) niż margines w błonie śluzowej. Margines bliski w tej grupie stwierdzono w 56,41%, a margines ujemny w 5,13% (tab. X).

Tabela X. Zależność głębokości nacieku guza od marginesów dodatnich, bliskich i ujemnych od podłoża

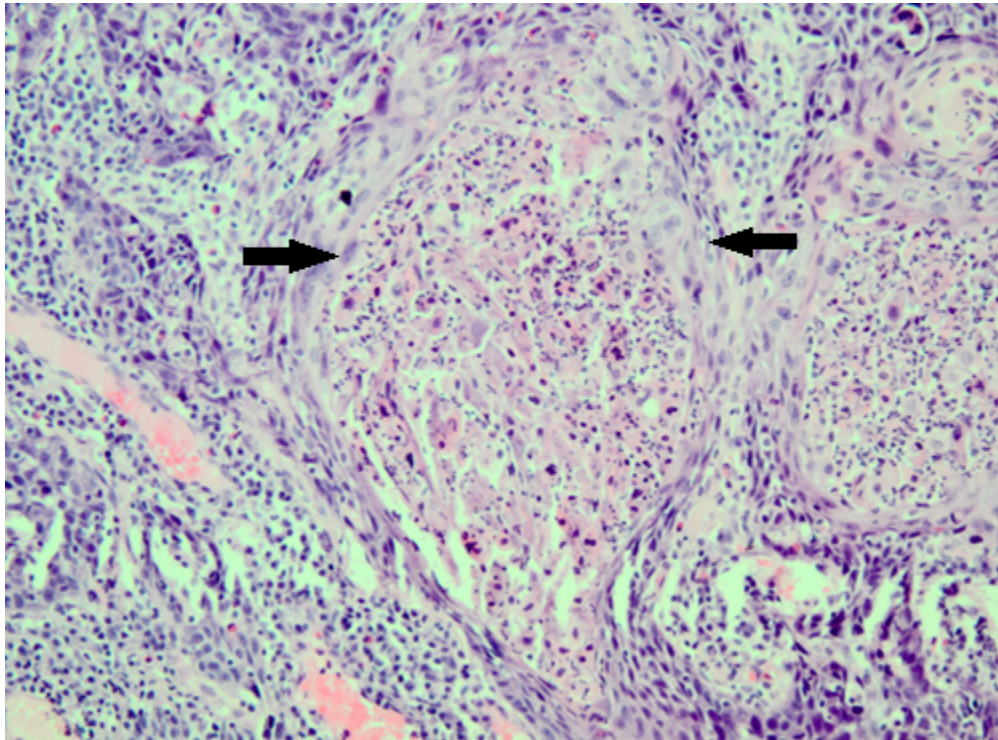
Głębokość nacieku guza ( mm)	Marginesy (liczba / odsetek chorych)			
	dodatni (podłoże)	bliski (podłoże)	ujemny (podłoże)	Razem
≤4	2 18,18%	6 54,55%	3 27,27%	11 100%
>4	15 38,46%	22 56,41%	2 5,13%	39 100%
Razem	17 34%	28 56%	5 10%	50 100%

Za istotny klinicznie margines dodatni uznano taki, gdy którykolwiek z marginesów (od podłoża lub w obrębie błony śluzowej) rozpoznano jako dodatni. W grupie z naciekiem  $\leq 4$  mm margines dodatni stwierdzono u 27,27% pacjentów, natomiast w grupie chorych z naciekiem  $> 4$  mm - w 66,67%. Stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy tymi grupami ( $p=0,0356$ ) i wyraźny wpływ głębokości nacieku na uzyskanie marginesu ujemnego.

Przeanalizowano korelację marginesów chirurgicznych ujemnego, bliskiego i dodatniego z głębokością nacieku. Marginesy dodatnie stwierdzano częściej od podłoża guza niż w obrębie błony śluzowej. U 58% (29/50) chorych stwierdzono marginesy dodatnie. Potwierdzono, że grubość guza, a więc głębokość nacieku nowotworowego nie wpływała istotnie na wynik dodatnich marginesów chirurgicznych. Średnia głębokość nacieku w przypadku dodatnich marginesów wynosiła 10,69 mm (SD: 7,12), a w przypadku marginesów bliskich lub ujemnych średnia - 8,24 mm (SD: 5,34).

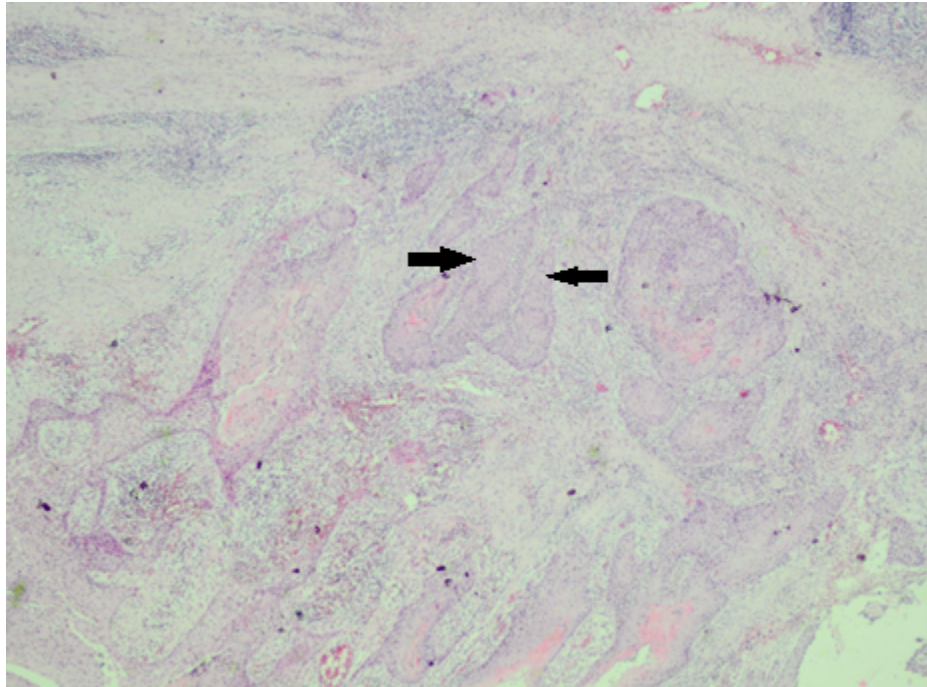
#### 4.2.2. Wzór naciekania

Naciek raka w obrębie frontu inwazji, a więc na granicy z tkanką zdrową, oceniano wg 6-stopniowej skali opracowanej w zaleceniach Konsensusu Patologów Brytyjskich. Guzy, które cechowały się tępym, równym brzegiem, oceniono w stopniu od 1 do 3 i zakwalifikowano do grupy 1. (spoiisty-cohesive). Natomiast guzy cechujące się naciekiem o poszarpanym, nierównym brzegu i wysokiej agresji inwazji klasyfikowane były w stopniach od 4 do 6 i stanowiły 2. grupę (niespoisty-noncohesive). Odpowiedne wzory naciekania przedstawiono na rycinach od 3. do 8.

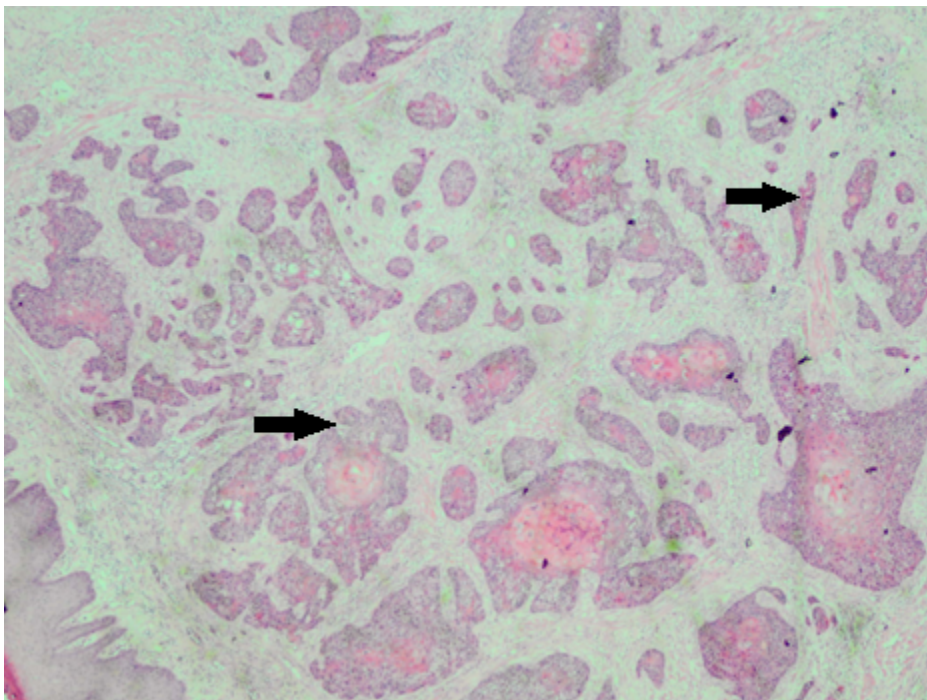


Rycina 3. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 10. Widoczny „tępy” brzeg guza na granicy frontu naciekania- 1. typ naciekania

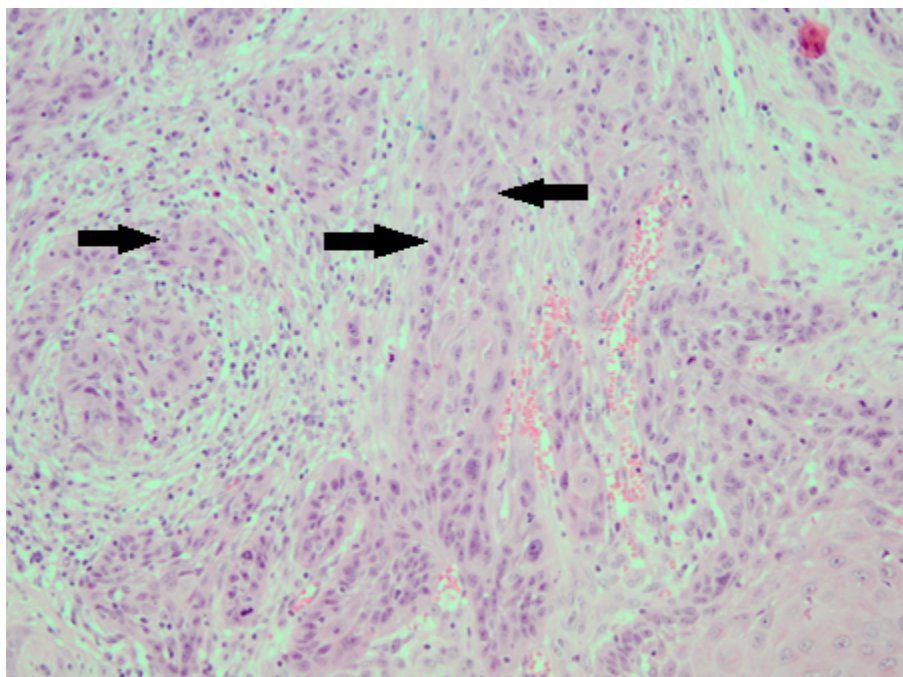




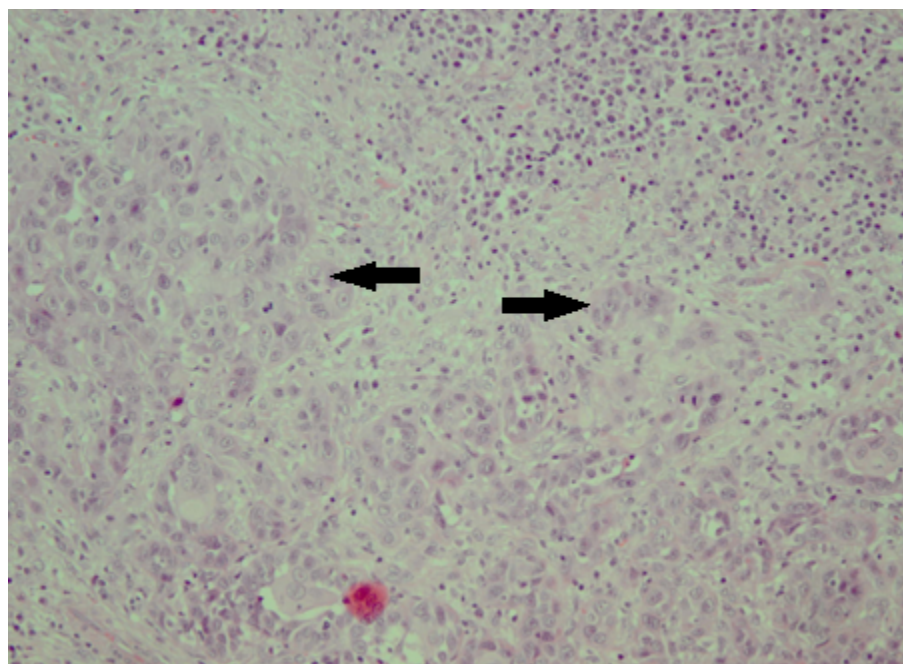
Rycina 4. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 4. Wzór naciekania – typ 2



Rycina 5. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 4. Wzór naciekania – typ 3

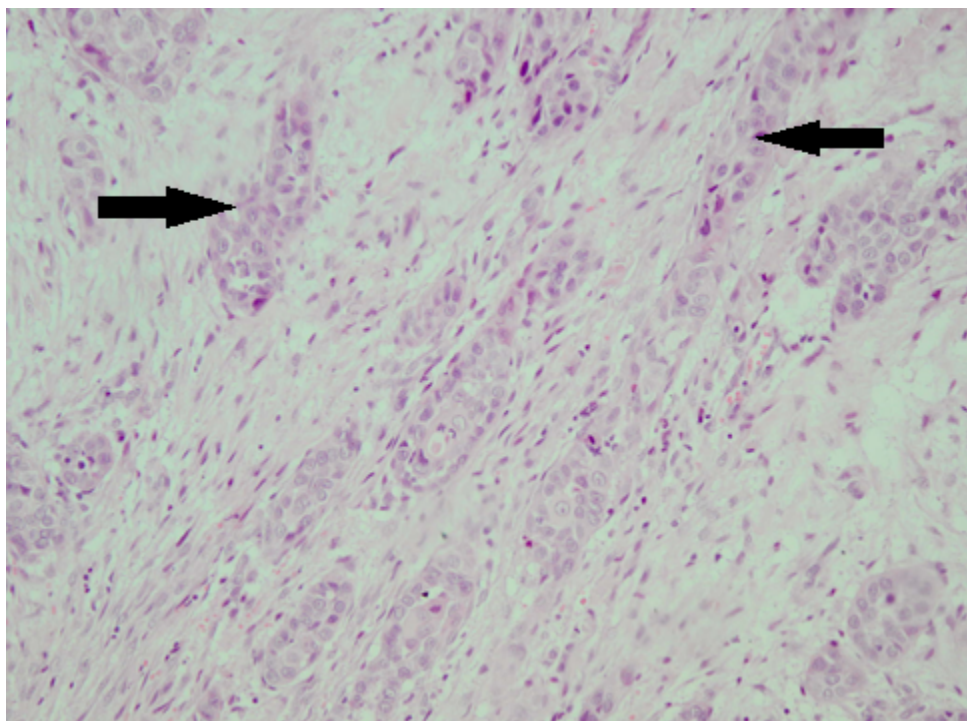


Rycina 6. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 10. Wzór naciekania – typ 4



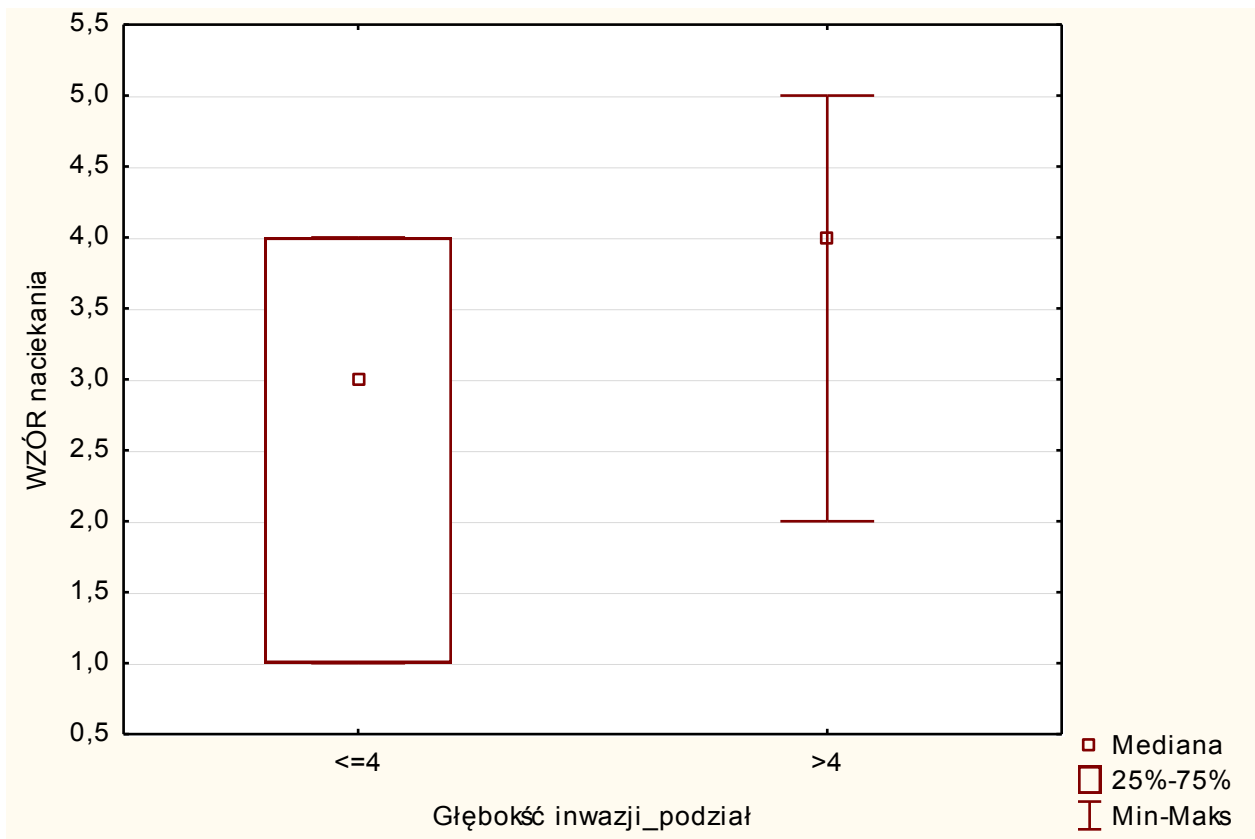
Rycina 7. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 10. Wzór naciekania - typ 5





Rycina 8. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 10. Wzór naciekania – typ 6

Guzy o mniejszej agresji nacieku nowotworowego stwierdzono u 9 chorych (18%), natomiast u wszystkich pozostałych były to guzy o większej złośliwości. Średnia głębokość nacieku w grupie o spoistym brzegu wynosiła 10,83 mm, a w grupie guzów cechujących się mniejszą agresją nacieku - 4,33 mm. Obie grupy istotnie różniły się statystycznie pod względem głębokości nacieku ( $p=0,0007$ ). Poza tym stwierdzono, że gdy grubość nacieku raka była  $\leq 4$  mm, to średnia wartość wzoru naciekania była również niższa i wynosiła średnio 2,55 (mediana 3) (ryc. 9). Natomiast gdy głębokość guza określono jako wyższą niż 4mm, to wzór naciekania był odpowiednio wyższy i wynosił średnio 3,92 (mediana 4). Stwierdzono istotną statystycznie różnicę między tymi grupami ( $p=0,0018$ ).



Rycina 9. Wykres ilustrujący korelację pomiędzy głębokością nacieku nowotworowego a wzorem naciekania we froncie guza

Zauważono, że wzór naciekania koreluje z inwazją nacieku nowotworowego nerwów. W grupie guzów z naciekaniami włókien nerwowych rozróżniano penetrację okołonurwową i wewnątrznerwową. W guzach z inwazją tkanki nerwowej rozpoznawano wyższe stopnie wzoru naciekania we froncie guza. Agresja nowotworowa wyrażona naciekaniami nerwów zwykle współwystępowała z agresywnym poszarpanym i nierównym brzegiem guza. W 21 z 50 objętych badaniem przypadków (42%) stwierdzono naciekanie nerwów. W tej grupie średni stopień wzoru inwazji wynosił 4,29 (mediana 4). W grupie guzów bez naciekania nerwów (29/50, co stanowiło 58%) średnia wzoru inwazji wynosiła natomiast 3,14 (mediana 3) (tab. XI).

Wzór inwazji w obrębie frontu nacieku raka, podobnie jak naciekanie nerwów jest silnym czynnikiem prognostycznym. Jest to cecha niezależna od zaawansowania klinicznego guza.

Tabela XI. Wzór naciekania we froncie guza w grupie chorych ze wznową miejscową

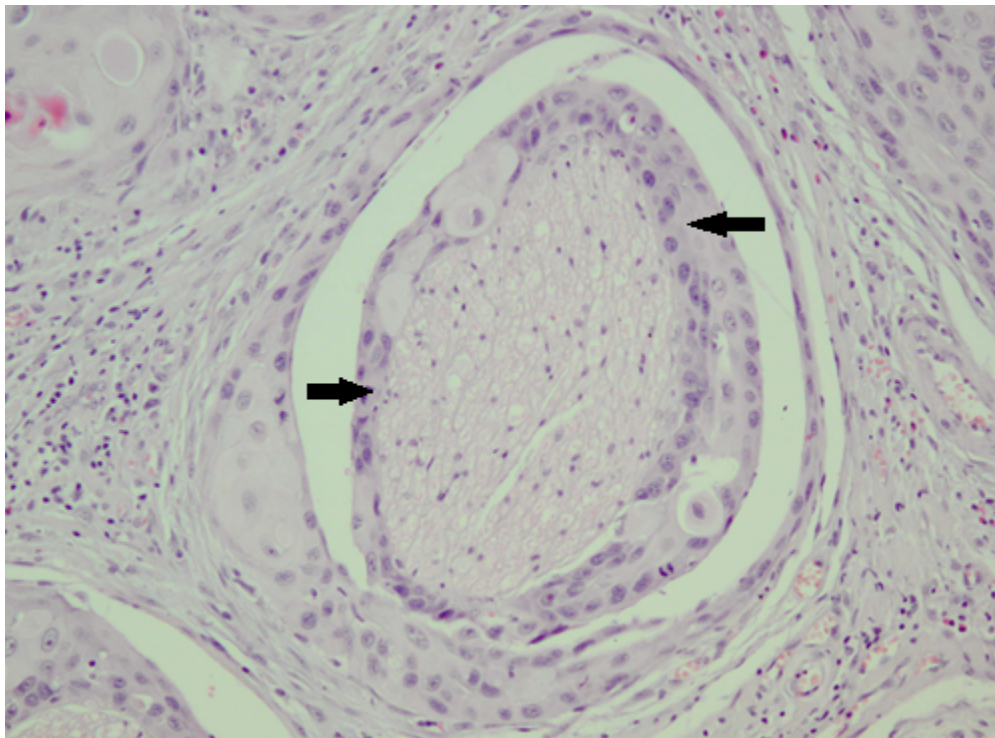
Nacieki nerwowe	Liczba chorych	Średnia $\bar{x}$ (mm)	Mediana	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe (SD)
Obecne	29	3,14	3,00	1,00	5,00	1,09
Brak	21	4,29	4,00	4,00	5,00	0,46

Dokładnej analizie poddano naciekanie mięśni, nerwów i naczyń, a następnie porównano z wzorem naciekania we froncie guza. Guzów z rozpoznanym naciekiem mięśni stwierdzono aż 34 (68%). Średnia wzoru naciekania w grupie z inwazją nerwów wynosiła 4,03 (mediana 4). W grupie bez inwazji nerwów (16/50) stwierdzono średni wzór inwazji 2,75 (mediana 3). Wzór naciekania w grupie z inwazją nerwów był wyraźnie wyższy i stwierdzono istotną statystycznie różnicę ( $p=0,0001$ ). W przypadku 12 guzów (24%) rozpoznano naciekanie naczyń. W tej grupie średni wzór inwazji wynosił 4. Pomimo że guzy bez naciekania naczyń cechowały się niższym wzorem naciekania (3,5), to nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy tymi grupami.

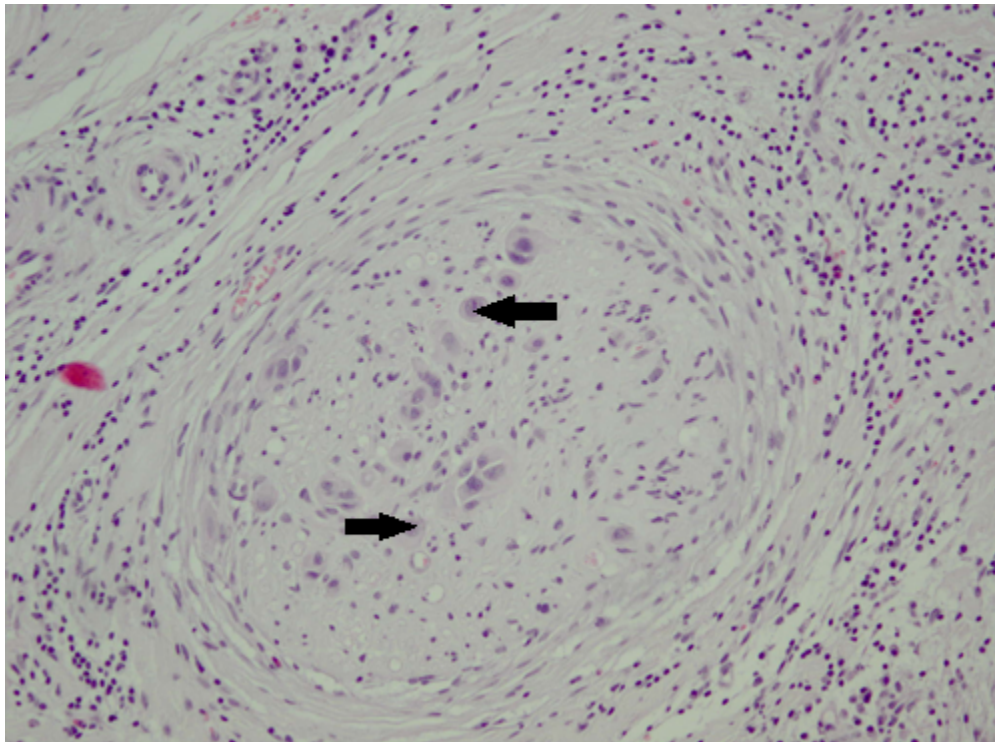
Naciekanie naczyń, nerwów i mięśni wyraźnie koreluje więc z uznanymi czynnikami prognostycznymi, takimi jak: wzór naciekania we froncie guza oraz głębokość nacieku. Dalsze badania potwierdziły wartość prognostyczną i korelację naciekania naczyń, nerwów i mięśni z: stopniem zróżnicowania, marginesem chirurgicznym, zaawansowaniem klinicznym, wiekiem chorych i okresem od leczenia chirurgicznego do wznowy.

#### 4.2.3. Naciekanie nerwów

W 21/50 (42%) przypadkach stwierdzono naciekanie nerwów (Ryc. 10 i 11). Naciekanie określano jako dodatnie, gdy naciek występował wokół nerwu, co potwierdzono u 18 na 50 chorych (36%), lub wewnątrz włókien nerwowych, co zauważono u 3 na 50 (6%) pacjentów. Nie stwierdzono zależności pomiędzy częstością naciekania nerwów a wiekiem i płcią pacjentów.



Rycina 10. Fragment guza języka w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 10. Naciekanie okołonerwowe



Rycina 11. Fragment guza języka w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 10. Naciekanie wewnątrznerwowe

#### 4.2.3.1. Zróżnicowanie guza – G (Grading)

Wyraźną zależność stwierdzono pomiędzy naciekaniem nerwów a zróżnicowaniem guza. U 21 chorych (42%), u których agresja nacieku charakteryzowała się szerzeniem raka wzdłuż nerwów, stwierdzono najwyższy odsetek guzów o wysokim stopniu zróżnicowania G3. Stopień ten wystąpił u 12 osób z tej grupy, co stanowi 57,14%

Guzów o średnim stopniu zróżnicowania G2 stwierdzono 7/21 (33,33%), a guzów najlepiej zróżnicowanych G1 zaledwie 2/21 (9,52%). Odwrotną zależność zauważono wśród guzów bez cech naciekania nerwów. W tej grupie najczęściej stwierdzono guzów o średnim stopniu zróżnicowania G2 18/29 (62,07%). Guzów o zróżnicowaniu G1 i G3 stwierdzono odpowiednio mniej - dla G1: 3/29 (10,34%) oraz dla G3: 8/29 (27,59%) (tab. XII). Różnice te wg testu Fishera-Freemana-Haltona wykazują graniczną istotność statystyczną ( $p=0,0782$ )

Tabela XII. Zróżnicowanie komórek guza (G) w grupie chorych z naciekaniem oraz bez naciekania nerwów

Nacieki nerwowe	Liczba / odsetek chorych ze zróżnicowaniem komórek guza G1	Liczba / odsetek chorych ze zróżnicowaniem komórek guza G2	Liczba / odsetek chorych ze zróżnicowaniem komórek guza G3	Razem
Brak naciekania nerwów	3 10,34%	18 62,07%	8 27,59%	29 100%
Naciekanie nerwów	2 9,52%	7 33,33%	12 57,14%	21 100%
Razem	5 10%	25 50%	20 40%	50 100%

Istotność oceny histologicznej nacieku nerwów potwierdza zależność od inwazyjnego frontu raka w obrębie nacieku nowotworowego. We wszystkich 21 przypadkach, u których potwierdzono w badaniu histologicznym nacieki nerwów, stwierdzono występowanie agresywnego, niespoistego frontu naciekania typu noncohesive. A więc w 100% guzów z naciekiem włókien nerwowych rozpoznano front nacieku raka cechującego się poszarpanym, nierównym brzegiem, z wypustkami daleko sięgającymi pomiędzy komórki tkanki zdrowej. Jednocześnie stwierdzono, że wśród guzów, w których nie potwierdzono nacieku nerwów, inwazyjny front raka (noncohesive) występował tylko w 31,03% przypadków (tab. XIII). Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy badanymi grupami ( $p=0,0065$ ).



Tabela XIII. Występowanie inwazyjnego frontu raka u chorych z naciekaniem nerwów

Nacieki nerwowe	Liczba / odsetek chorych z inwazyjnym frontem raka (noncohesive)	Liczba / odsetek chorych z nieinwazyjnym frontem raka (cohesive)	Razem
Brak naciekania nerwów	20 68,97%	9 31,03%	29 100%
Naciekanie nerwów	21 100%	0 0%	21 100%
Razem	41 82%	9 18%	50 100%

#### 4.2.3.2. Marginesy chirurgiczne

Bardzo ważną cechą prognostyczną dla chorego jest wartość uzyskanych marginesów chirurgicznych. W niniejszej pracy badano korelację pomiędzy uzyskanymi marginesami chirurgicznymi – szczególnie tymi od podłoża - a cechą naciekania nerwów. U pacjentów, u których nie stwierdzano nacieków na włókna nerwowe, margines chirurgiczny był większy i średnio wynosił 2,07 mm (SD 2,46). Natomiast gdy nacieki były obecne, średnia wartość marginesu w błonie śluzowej wynosiła zaledwie 1,38 mm (SD 2,36).

W przypadku marginesów chirurgicznych uzyskanych od podłoża preparatu rozbieżność wyników była większa. Gdy nacieki na nerwy były obecne, wartość marginesów była niska i wynosiła zaledwie 1,52 mm (SD 2,02). Gdy margines był większy i wynosił średnio 3,21 mm (SD 4,17) nacieki nerwowe nie były stwierdzane. Ponadto stwierdzono podobny odsetek marginesów dodatnich, bliskich i ujemnych uzyskanych w obrębie błony śluzowej niezależnie od obecności nacieków na nerwy (tab. XIV). Wartości te różniły się dla marginesów uzyskanych od podłoża.

Odsetek przypadków z uzyskanymi marginesami dodatnimi i bliskimi od podłoża dla guzów z nacieczonymi nerwami wynosił odpowiednio 42,86% i 47,62%, a dla guzów bez

cech naciekania na nerwy 27,59% i 62,07% (tab. XV). Odsetek marginesów ujemnych uzyskanych od podłoża był podobny dla obu grup.

Jeśli którykolwiek z marginesów był dodatni - od podłoża lub w obrębie błony śluzowej - to nacieki na włókna nerwowe rozpoznawano aż w 66,67%.

Tabela XIV. Zależność naciekania nerwów od marginesów dodatnich, bliskich i ujemnych w obrębie błony śluzowej

Nacieki nerwowe	Marginesy (liczba / odsetek chorych)			Razem
	dodatni (błona śluzowa)	bliski (błona śluzowa)	ujemny (błona śluzowa)	
Brak naciekania nerwów	13 44,83%	13 44,83%	3 10,34%	29 100%
Naciekanie nerwów	10 47,62%	10 47,62%	1 4,76%	21 100%
Razem	23	23	4	50



Tabela XV. Zależność naciekania nerwów od marginesów dodatnich, bliskich i ujemnych od podłoża

Nacieki nerwowe	Marginesy (liczba / odsetek chorych)			Razem
	dodatni (podłoże)	bliski (podłoże)	ujemny (podłoże)	
Brak naciekania nerwów	8 27,59%	18 62,07%	3 10,34%	29 58%
Naciekanie nerwów	9 42,86%	10 47,62%	2 9,52%	21 42%
Razem	17	28	5	50

#### 4.2.3.3. Zaawansowanie narządowe guza – cecha T

Analizie poddano występowanie naciekania włókien nerwowych w guzach o różnym zaawansowaniu klinicznym. W przypadku guzów o niższym stopniu zaawansowania - T1 nacieki raka na nerwy występowały rzadziej. W grupie guzów z nacieczonymi nerwami cechę T1 stwierdzono w 4,76%, a w grupie bez nacieków takich guzów ujawniono więcej - 17,24%. Guzy o średnim stopniu zaawansowania cechowały się podobną częstością naciekania nerwów. W grupie ze zniszczonymi nerwami rozpoznano 33,33% zmian w stopniu zaawansowania T2, a guzy T3 stanowiły 42,86%. W całej badanej grupie rozpoznano 5 guzów o najwyższym zaawansowaniu T4 (10%). U 4 chorych ujawniono nacieki na tkankę nerwową i tylko u 1 nie rozpoznano nacieków na nerwy. Utrudniona ocena guzów o wysokim zaawansowaniu mogła wynikać z obfitej martwicy dużych guzów, co utrudniało odnalezienie zniszczonych nerwów w badaniu histologicznym. W

grupie, w której nie stwierdzono naciekania na nerwy, rozpoznano odpowiednio: 17,24% guzów w stopniu T1, 37,93% guzów T2 oraz 41,38% zmian o zaawansowaniu T3 (tab. XVI).

Tabela XVI. Zaawansowanie guza (cecha T) w grupie chorych z naciekaniem oraz bez naciekania nerwów

Nacieki nerwowe	Stopień zaawansowania guza - T (liczba / odsetek chorych)				
	T1	T2	T3	T4	Razem
Brak naciekania nerwów	5 17,24%	11 37,93%	12 41,38%	1 3,45%	29 100%
Naciekanie nerwów	1 4,76%	7 33,33%	9 42,86%	4 19,05%	21 42%
Razem	6 12%	18 36%	21 42%	5 10%	50 100%

W analizie nie wykazano istotnej statystycznie korelacji pomiędzy naciekaniem nerwów a zaawansowaniem miejscowym guza, czyli cechą T ( $p=0,082$  na granicy istotności). Badania przeprowadzono w grupie chorych ze wznową miejscową, dlatego można przypuszczać, że niepowodzenie leczenia nie wynikało z zaawansowania guza, ale z jego cech złośliwości.

#### 4.2.3.4. Okres do wznowy

Wznowę miejscową rozpoznano u chorych średnio po okresie 14,46 miesięcy. Zauważono, że w grupie z nacieczonymi nerwami okres od pierwotnego leczenia chirurgicznego do wznowy był krótszy ( $\bar{x}=13,24$  miesięcy, SD 15,13), a w grupie bez nacieków na nerwy wznowa występowała później ( $\bar{x}=15,34$  miesięcy, SD 9,58) (tab. XVII).

Tabela XVII. Okres od leczenia chirurgicznego do wznowy miejscowej w grupie chorych z naciekami na nerwy

Średnia $\bar{x}$ liczba miesiący	Nacieki nerwowe	Liczba chorych	Mediana	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe (SD)
15,34	Brak	29	12,00	2,00	38,00	9,58
13,24	Obecne	21	8,00	4,00	75,00	15,13

#### 4.2.3.5. Wiek chorych

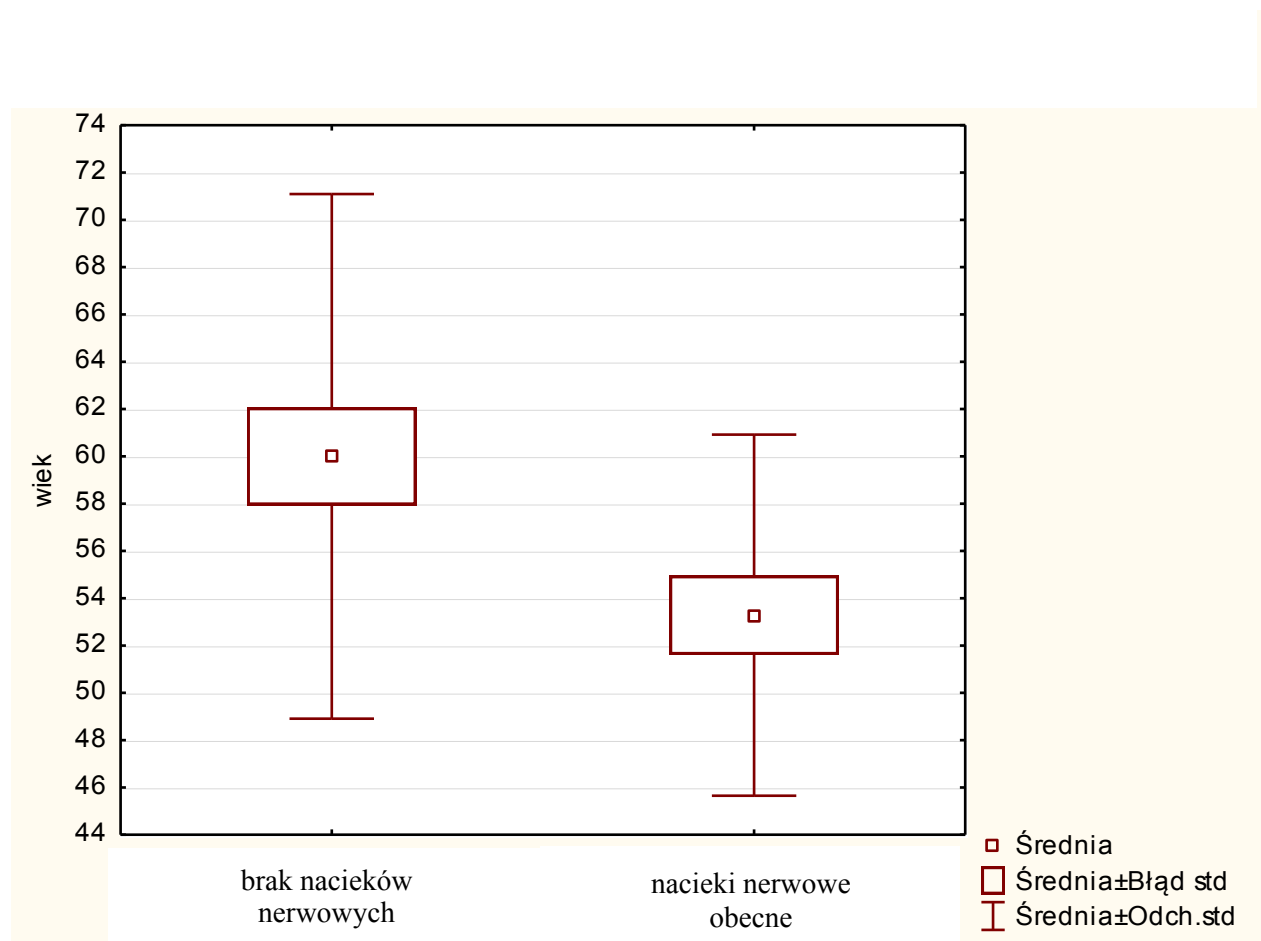
Średnia wieku wszystkich chorych w dniu rozpoznania choroby wynosiła 57,18 lat. Wśród chorych ze wznową i współwystępującym naciekiem nerwów średnia wieku była wyraźnie niższa ( $\bar{x}=53,29$  lat, SD 7,64). Natomiast pacjenci, u których nie stwierdzono niszczenia włókien nerwowych, byli starsi. W tej grupie średnia wieku wynosiła 60,00 lat (SD 11,09). Nacieki nerwowe dominowały w grupie młodszych chorych (ryc. 12). Analiza statystyczna wykazała istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupami chorych ( $p=0,01$ ).

#### **4.2.4. Naciekanie naczyń**

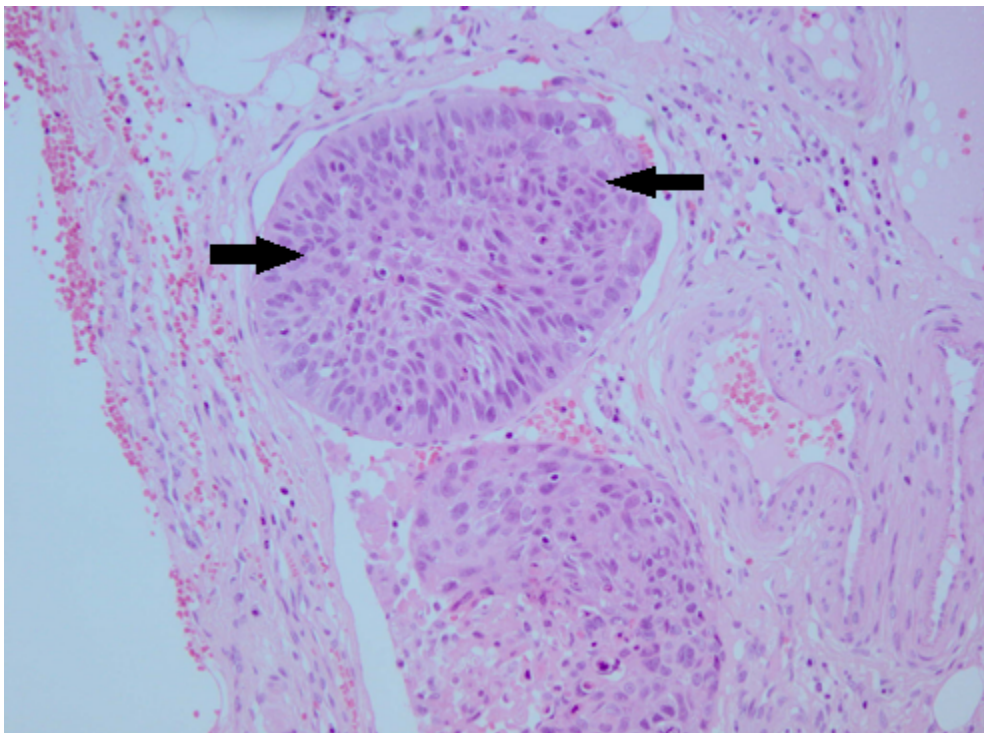
##### 4.2.4.1. Zaawansowanie narządowe - cecha T

Spośród grupy 50 chorych, u których wystąpiła wznowa miejscowa, u 12 (24%) stwierdzono naciekanie naczyń krwionośnych lub limfatycznych (ryc. 13). Guzy o niskim zaawansowaniu, zakwalifikowane jako T1, nie cechowały się naciekaniami naczyń. Większość guzów, u których ujawniono naciekanie naczyń, została oceniona jako T2 (41,67%) i T3 (50,00%). Spośród 5 guzów o zaawansowaniu T4 tylko jeden cechował się naciekaniami naczyń. U pozostałych 4 nie udało się uwidocznić niszczenia naczyń, co mogło być związane z rozległą martwicą w obrębie masy guza. Nie wykazano istotnej

statystycznie różnicy występowania nacieku na naczynia w zależności od wielkości guza - jego cechy T.



Rycina 12. Wykres ilustrujący zależność pomiędzy średnią wieku a nacieczonymi przez nowotwór włóknami nerwowymi



Rycina 13. Fragment guza języka- barwienie H+E, powiększenie x 10. Naciekanie naczyń

#### 4.2.4.2. Zaawansowanie przerzutów do węzłów chłonnych – cecha N

Zdecydowaną korelację ujawniono pomiędzy niszczeniem naczyń przez naciek raka a występowaniem przerzutów do węzłów chłonnych na szyi. Wśród pacjentów, u których rozpoznano w histologicznym badaniu przerzuty do węzłów chłonnych, zawsze współwystępowały nacieczone naczynia krwionośne lub limfatyczne. U 14 z 50 chorych (28%), u których wykonano operację układu chłonnego szyi, nie potwierdzono w badaniu histologicznym przerzutów do węzłów. W tej samej grupie 14 chorych nie ujawniono również naciekania naczyń. Najczęściej zaawansowanie węzłów określano jako N1, co stanowiło 75% przypadków. Pozostali chorzy z naciekiem w obrębie ściany naczynia (25%) charakteryzowali się przerzutami do węzłów w stopniu N2. W grupie pacjentów bez naciekania naczyń chorych o zaawansowaniu węzłowym N0 stwierdzono 36,84%, N1: 50,00%, a N2: 13,16%. Istotną zależność pomiędzy występowaniem przerzutów a naciekaniami naczyń potwierdzono testem Manna-Whitneya (z poprawką na ciągłość)  $p=0,0229$ .

#### 4.2.4.3. Histologiczne zróżnicowanie raka - G (Grading)

W grupie chorych z naciekaniami naczyń przeważał niski stopień zróżnicowania G3. Aż 50% guzów z niszczeniem naczyń charakteryzowało się wysoką złośliwością. Rzadziej rozpoznawano naciekanie wśród guzów o wyższym stopniu zróżnicowania G1 (8,33%) i G2 (41,67%). Zatem ze wzrostem zaawansowania klinicznego guza (T) istotnie wzrastało ryzyko naciekania naczyń.

#### 4.2.4.4. Głębokość inwazji

Guzy cechujące się naciekaniami naczyń wyróżniały się głębszą penetracją nacieku nowotworowego, który średnio wynosił 11,25 mm (SD 7,76). W grupie bez nacieku na naczynia głębokość nacieku była odpowiednio niższa i wynosiła średnio 9,16 mm (SD 6,07). Ponadto 91,67% guzów z naciekiem na naczynia cechowało się grubością guza >4 mm. Odsetek w grupie bez naciekania naczyń był niższy i wynosił 73,68%.

#### 4.2.4.5. Marginesy chirurgiczne

Odległość nacieku raka od zdrowej tkanki w obrębie błony śluzowej mierzona w milimetrach w grupie z naciekaniami naczyń średnio wynosiła 1,42 mm (SD: 8,00) i była podobna jak w grupie bez niszczenia tych struktur, gdzie średnio wynosiła 1,89 mm (SD: 10,00). Różnicę odnotowano w uzyskiwanych marginesach od podłoża guza. W grupie z nacieczonymi nerwami średnia wielkość marginesu od podłoża była niższa i wynosiła 1,00 mm (SD: 1,54), a w grupie bez zniszczonych naczyń wyższa - 2,97 mm (SD: 3,82). Ponadto w grupie o wyższym ryzyku onkologicznym, czyli u pacjentów ze stwierdzonym naciekaniami naczyń, nie uzyskano ujemnych marginesów od podłoża. Na 12 chorych z nacieczonymi naczyniami u 6 (50%) uzyskano marginesy dodatnie, a u pozostałych bliskie.

#### 4.2.4.6. Wzór naciekania

W grupie guzów, cechujących się naciekaniem naczyń 91,7% guzów wykazywało agresywny typ naciekania (noncohesive) we froncie guza. Tylko 1 chory z tej grupy prezentował 3., mniej agresywny wzór naciekania. Nie wykazano 1 i 2 wzoru naciekania, cechującego się najmniej agresywnym wzrostem. Natomiast w grupie guzów bez nacieku na naczynia 60,5% przypadków cechowały wyższe wzory naciekania, a aż 39,5% przypadków cechowało się mniej agresywnymi wzorami naciekania we froncie guza: 9 chorych prezentowało 3. typ, 2 chorych 2. typ, a 4 chorych najmniej agresywny 1. typ naciekania.

#### 4.2.4.7. Okres wolny od wznowy miejscowej (disease-free survival)

Analiza statystyczna pozwoliła na ocenę okresu wolnego od wznowy miejscowej, mierzonego od momentu zabiegu operacyjnego do potwierdzenia wznowy w badaniu histologicznym. Niewątpliwie krótszy czas wolny od wznowy (disease-free survival) stwierdzono wśród chorych, u których potwierdzono naciekanie naczyń. Okres ten wynosił średnio 9,58 miesięcy (SD: 5,71) i był istotnie krótszy niż w grupie, w której nie wykazano niszczenia naczyń, gdzie średnio wynosił 16,00 miesięcy (SD: 13,22). Zaobserwowana różnica była istotna statystycznie ( $p = 0,0485$ ).

### **4.2.5. Naciekanie mięśni**

Niszczenie tkanki mięśniowej przez nowotwór ujawniono u 34/50 chorych, co stanowiło 68%.

#### 4.2.5.1. Zaawansowanie narządowe guza - cecha T

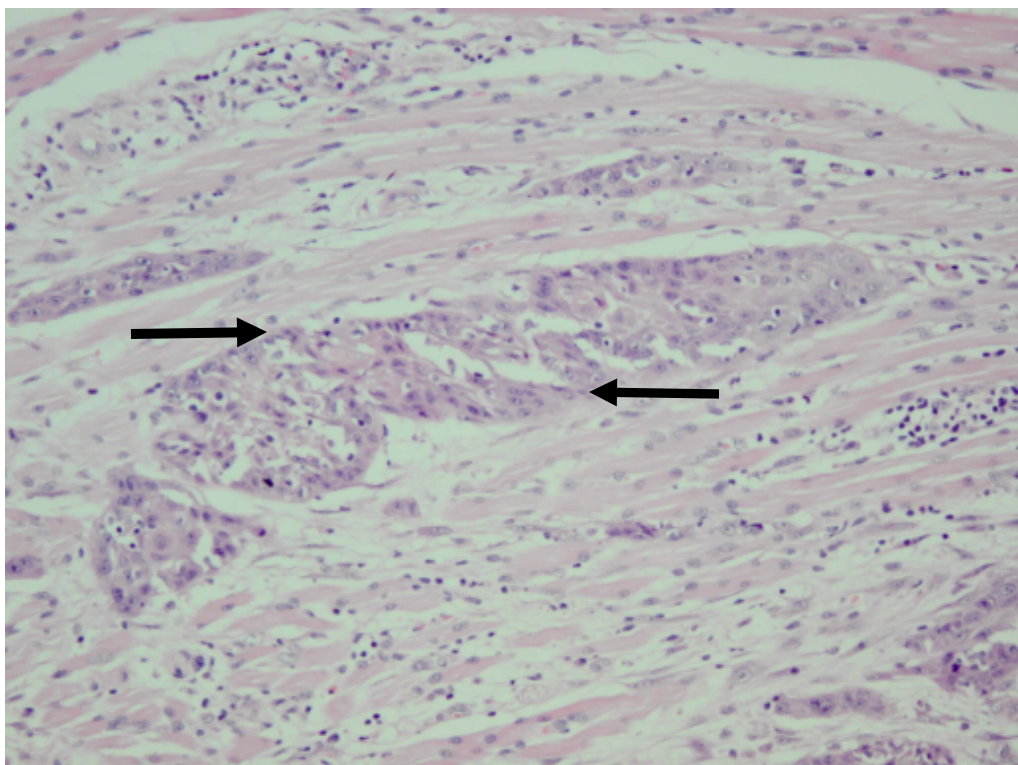
Odnotowano wyraźną zmienność zaawansowania klinicznego guza (cecha T) w grupie z naciekaniem mięśni. Najmniej - bo tylko 2 - stwierdzono guzów o zaawansowaniu T1, co stanowiło 5,88%. Więcej guzów zostało zakwalifikowanych jako T2: 11/34 (32,35%) oraz T3: 16/34 (47,06%). W grupie bez naciekania mięśni zanotowano odwrotne proporcje zaawansowania guzów ( $p = 0,0146$ ). Iloraz szans wyniósł OR 2,82 (1,19 - 6,73).

Stwierdzono stosunkowo wysoki odsetek guzów T1 - 4/16 co stanowiło 25%. Jednocześnie nie odnotowano guzów o najwyższym zaawansowaniu T4. Dokładny rozkład przedstawia tabela XVIII. Naciekanie mięśni przedstawiono na rycinie 14.

Tabela XVIII. Zależność naciekania włókien mięśniowych od wielkości guza (cecha T)

Nacieki mięśniowe	Wielkość guza (liczba / odsetek chorych)				
	T1	T2	T3	T4	Razem
Brak naciekania mięśni	4 25,00%	7 43,75%	5 31,25%	0 0%	16 32%
Naciekanie mięśni	2 5,88%	11 32,35%	16 47,06%	5 14,71%	34 68%
Razem	6 12%	18 36%	21 42%	5 10%	50 100%





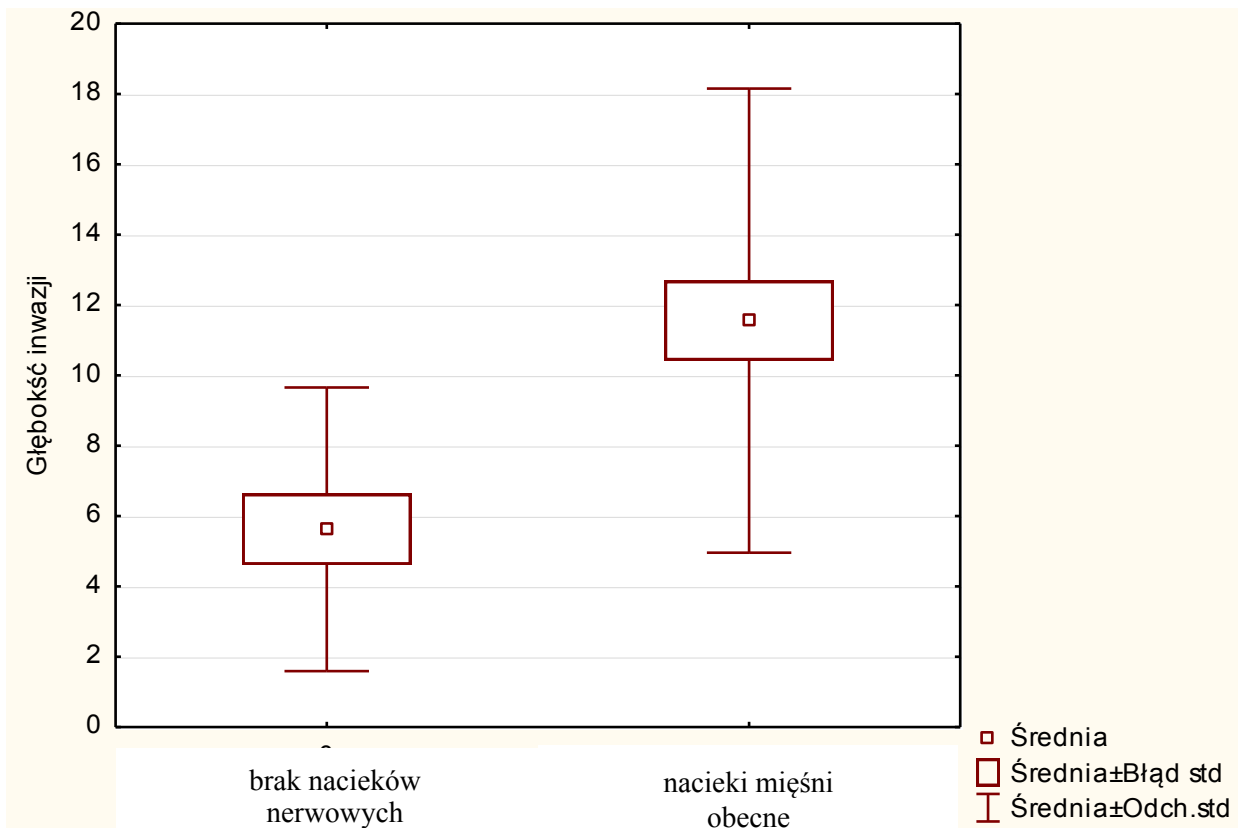
Rycina 14. Fragment guza języka- barwienie H+E, powiększenie x 10. Naciekanie mięśni

#### 4.2.5.2. Przerzuty do węzłów chłonnych – cecha N

W grupie chorych z naciekaniami mięśni zaledwie u 7/34 (20,59%) nie odnotowano przerzutów do węzłów chłonnych. U pozostałych 79,41% chorych potwierdzono przerzuty do węzłów chłonnych, z czego zaawansowanie w stopniu N2 stwierdzono u 58% (20/34) chorych, a N3 u 20,58% (7/34). W grupie pacjentów z guzami o mniejszej agresji onkologicznej 43,75% (7/16) przypadków było wolnych od przerzutów, u połowy (8/16) rozpoznano przerzuty o zaawansowaniu N2, a w 6,25% (1/16) N3. Analiza statystyczna wykazała  $p = 0,0610$  na granicy istotności, a iloraz szans wyliczono  $OR = 2,59 (0,91 - 7,33)$ . Można zatem przyjąć, że ryzyko wystąpienia przerzutów do węzłów chłonnych na szyi wzrasta, jeśli badanie histologiczne potwierdza naciekanie na włókna mięśniowe.

#### 4.2.5.3. Głębokość inwazji

Wśród guzów z naciekiem na mięśnie średnia głębokość inwazji wynosiła 11,56 mm (SD: 6,60). W grupie guzów bez niszczenia mięśni średnia grubość nacieku okazała się prawie o połowę mniejsza (5,63 mm, SD: 4,03) (ryc. 15). Potwierdzono istotną statystycznie różnicę w grubości nacieku w zależności od obecności nacieczonych mięśni ( $p=0,0005$ ). Ponadto analiza statystyczna - po wyliczeniu ilorazu szans - wykazała, że gdy głębokość nacieku wzrasta o 1 mm, to prawdopodobieństwo naciekania mięśni wzrasta o 1,33 (OR= 1,33 z 95% przedziałem ufności (1,09 - 1,64)). 91,18% przypadków (31/34) spośród guzów z obecnymi naciekami na mięśniówkę cechuje się głębokością nacieku >4 mm. Jednocześnie dowiedziono, że znacznie mniejszy odsetek wśród guzów w tej grupie cechuje się brakiem nacieku na mięśnie. Zależność jest istotna statystycznie ( $p=0,0022$ ).



Rycina 15. Wykres ilustrujący średnią różnicę pomiędzy głębokością naciekania guza w grupach chorych z niszczeniem mięśni i bez naciekania na mięśnie

#### 4.2.5.4. Wzór naciekania i inwazyjny front raka

Zauważono istotną różnicę w występowaniu inwazyjnego frontu raka przy jednoczesnym stwierdzeniu naciekania mięśni. W grupie guzów cechujących się brakiem naciekania na mięśnie agresywny front raka (cohesive) występował z równą częstością co nieinwazyjny front (cohesive). Natomiast w grupie z naciekami na włókna mięśniowe większość, bo aż 97,06% guzów cechowało się inwazyjnym typem frontu raka. Istotność statystyczna cechy wyniosła  $p=0,0002$ . Wzór naciekania w 6-stopniowej skali w grupie z niszczeniem mięśni wyniósł średnio 4,03 (SD: 0,67), natomiast w grupie wolnej od nacieków na mięśnie 2,75

(SD:1,18). Potwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy dwiema grupami  $p < 0,0001$ , a iloraz szans wyniósł  $OR=5,10$ .

#### 4.2.5.5. Margines chirurgiczny

W badanym materiale wystąpiła proporcjonalna zależność pomiędzy dodatnimi marginesami a naciekaniem mięśni. Margines dodatni w grupie przypadków ze zniszczonymi przez naciek nowotworowy mięśniami w ostatecznym badaniu histologicznym potwierdzono aż u 67,65% chorych. Natomiast w grupie bez naciekania mięśni margines dodatni odnotowano w mniejszym odsetku, bo tylko w 37,50%, podczas gdy aż 2/3 tych chorych uzyskało margines ujemny lub bliski. Po wykonaniu jednostronnego testu dokładnego Fishera zauważono odwrotnie proporcjonalny udział procentowy chorych w obu grupach ( $p=0,0661$ ). Szczególny wpływ na wyniki badań miał margines uzyskany od podłoża.

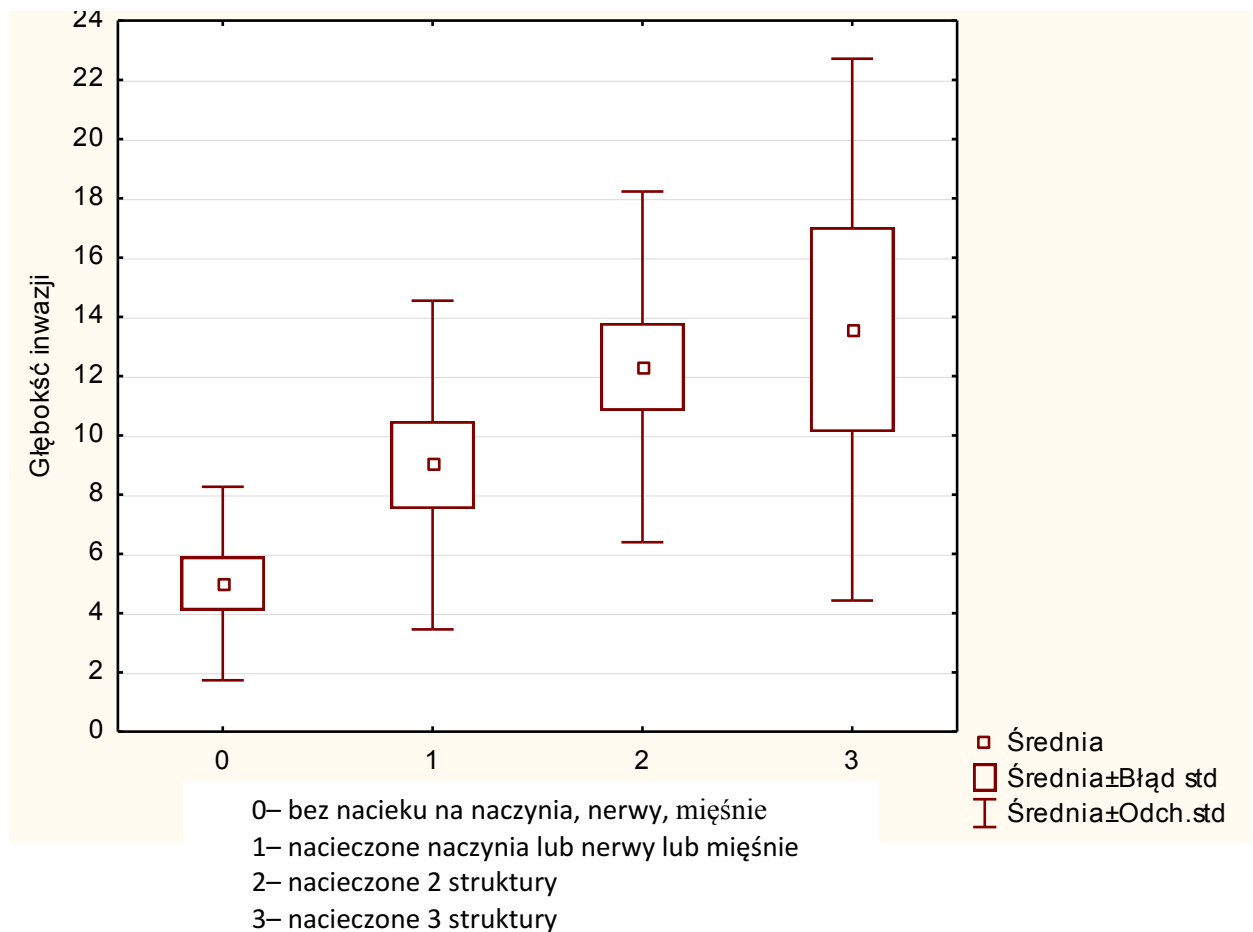
#### 4.2.5.6. Okres wolny od wznowy miejscowej (disease-free survival)

Ocena okresu od pierwotnego zabiegu chirurgicznego do wystąpienia wznowy ujawniła różnicę pomiędzy grupą chorych ze zniszczonymi przez naciek nowotworowy mięśniami, gdzie średnio okres ten wynosił średnio 13,74 miesiące (SD: 13,27), a grupą bez nacieku na mięśnie, gdzie okres do wznowy wyniósł średnio 16,00 miesięcy (SD: 9,42). Zauważona różnica była wyraźna, ale nie tak wysoka jak w przypadku naciekania naczyń; nie potwierdzono również różnicy istotnej statystycznie.

#### **4.2.6. Korelacja cech: naciekanie naczyń, nerwów i mięśni**

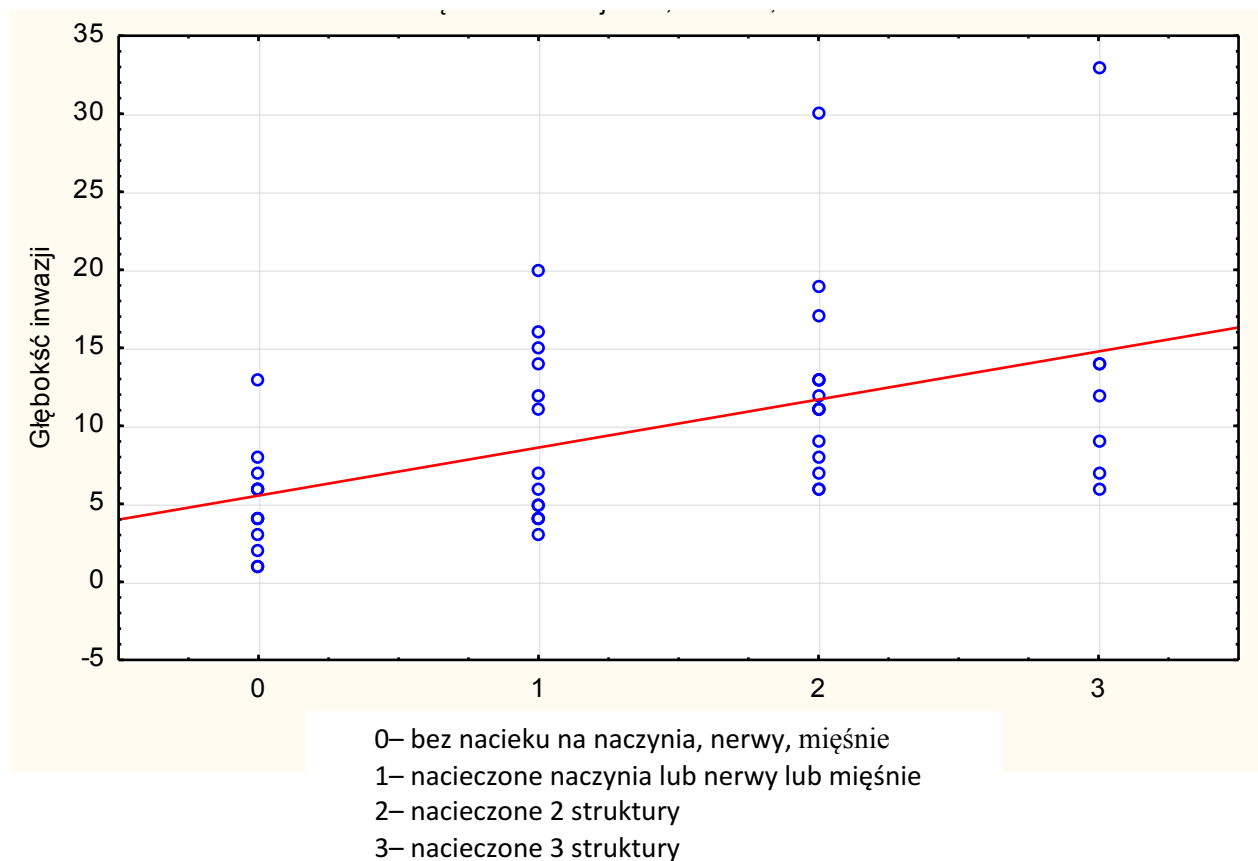
Przeprowadzono dokładną analizę zależności głębokości nacieku nowotworowego względem naczyń, nerwów i mięśni. Zauważono wyraźną korelację między liczbą nacieczonych przez nowotwór struktur anatomicznych a głębokością nacieku, niezależnie od tego, które spośród tych trzech ocenianych struktur były zajęte. W przypadku gdy żadna z ocenianych struktur nie była nacieczona, średnia grubość nacieku wynosiła zaledwie 5

mm. Gdy naciek obejmował jedną, dowolną z ocenianych systruktur, średnia głębokość nacieku wynosiła 9 mm. Gdy naciek nowotworowy cechował się wysoką agresywnością i obejmował dwie struktury: naczynia i mięśnie, naczynia i nerwy lub mięśnie i nerwy, to wówczas głębokość nacieku średnio wynosiła 12,31 mm. W przypadku większej złośliwości onkologicznej, gdy guz naciekał wszystkie trzy oceniane struktury, głębokość nacieku była relatywnie wyższa i wynosiła średnio 13,57 mm (ryc. 16). Stwierdzono istotną statystycznie, liniową zależność pomiędzy liczbą nacieczonych przez nowotwór struktur anatomicznych a grubością nacieku (ryc. 17).



Rycina 16. Korelacja liczby nacieczonych struktur z głębokością nacieku raka

Analiza statystyczna korelacji porządku rang Spearmana wykazała, że jeśli liczba nacieczonych struktur wynosiła  $\geq 2$ , to głębokość nacieku istotnie wzrastała. Pomiędzy liczbą nacieczonych struktur: naczyń, nerwów i mięśni a głębokością nacieku nowotworowego istnieje statystycznie dodatnia korelacja.



Rycina 17. Wykres przedstawiający zależność pomiędzy liczbą nacieczonych struktur a głębokością nacieku raka

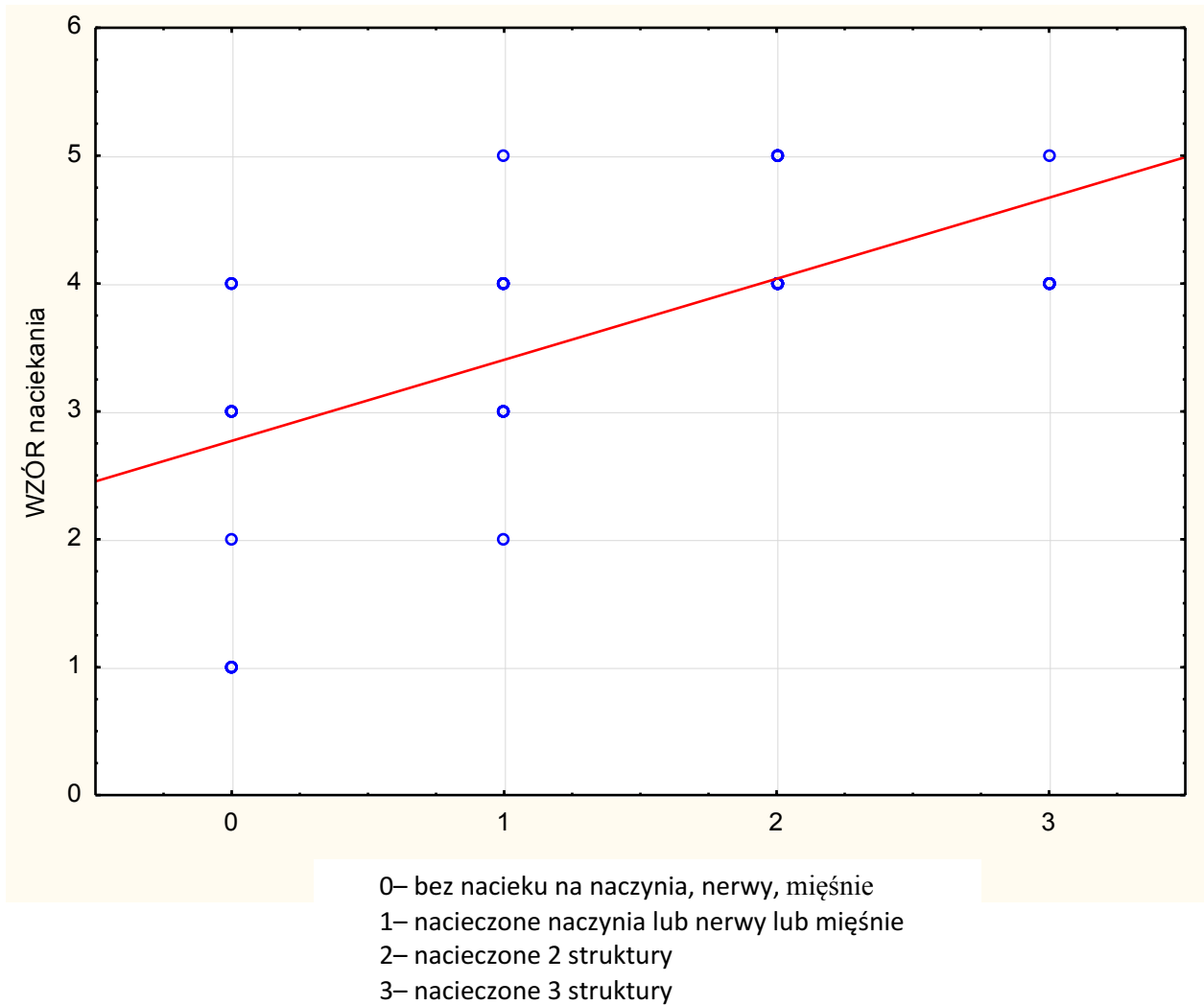
Dowodzono również, że większa liczba niszczonej przez nowotwór struktur koreluje z grubością guza  $>4$  mm. Dwie lub trzy naciezione struktury anatomiczne stwierdzano wyłącznie w guzach grubszych niż 4 mm. To pozwala wnioskować, że

wartość ocenianych przez mnie struktur: naczyń, nerwów i mięśni jako czynników prognostycznych jest porównywalna.

Istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,0001$ ) zanotowano pomiędzy wzorem naciekania raka we froncie guza w zależności od liczby niszczonej przez nowotwór struktur. Jeśli rozpoznano  $\geq 2$  nacieczonych struktur, to 100% guzów cechowało się inwazyjnym brzegiem guza o nierównej powierzchni z wypustkami złożonymi z komórek raka daleko sięgającymi w tkankę zdrową (noncohesive).

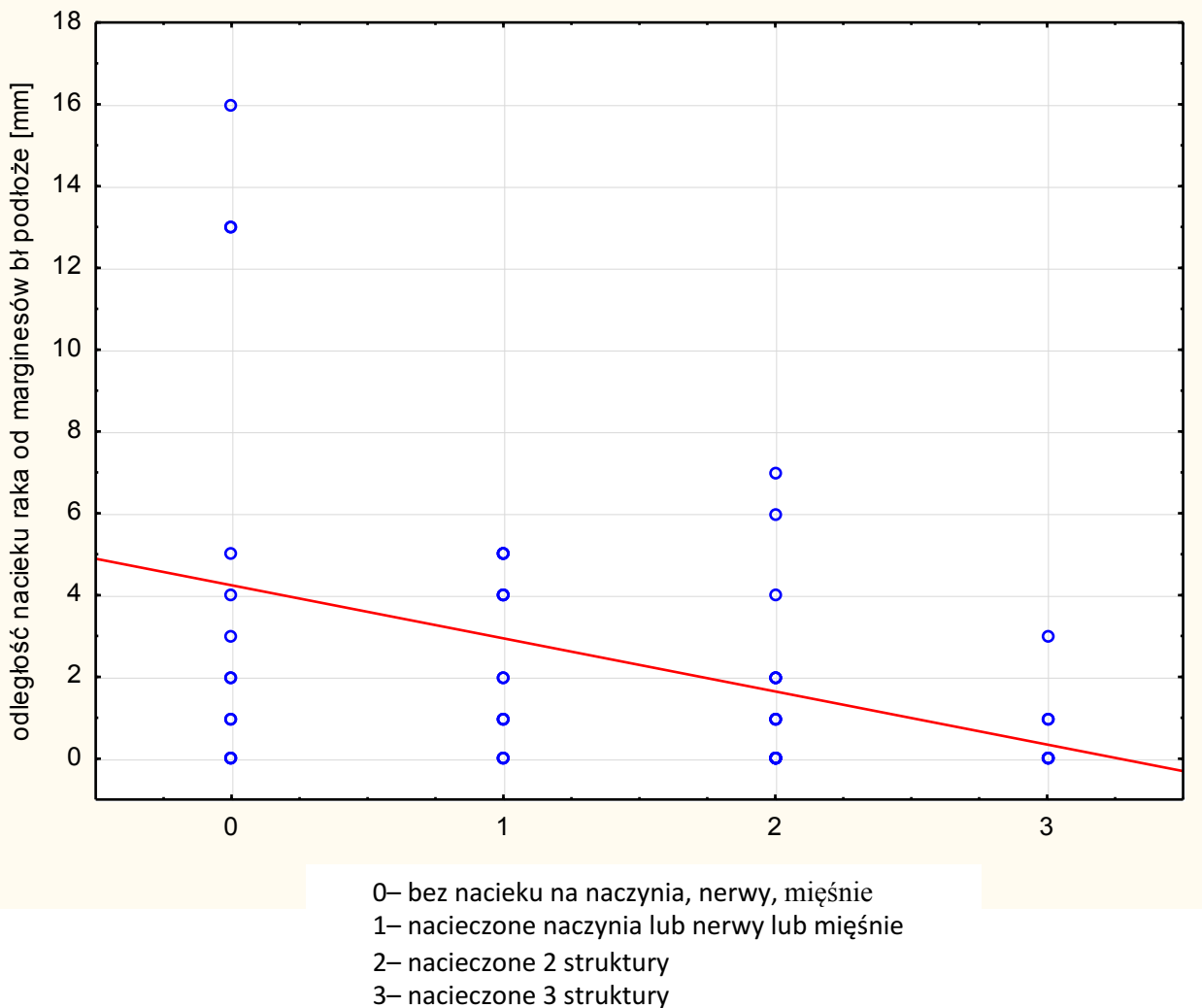
Istotną korelację pomiędzy nacieczonymi strukturami a wzorem naciekania we froncie guza potwierdzono w teście Kruskala - Wallisa (korelacja istotna  $p < 0,0001$ ;  $R_s = 0,6476$ ). Jeśli w badaniu histologicznym nie potwierdzono naciekania nerwów, naczyń i mięśni to średni wzór naciekania wynosił 2,54. Gdy jedna z ocenianych tkanek była nacieczona, średni wzór inwazji wynosił 3,57. Gdy niszczone przez guz były dwie lub trzy z ocenianych struktur wówczas wzór średnio wynosił 4,32 i 4,14 (ryc. 18).

Istotną, ujemną liniową zależność ( $R_s = -0,3425$ ;  $p = 0,0149$ ) ujawniono pomiędzy marginesem ocenianym od podłoża guza względem liczby nacieczonych struktur. Jeśli zniszczone przez nowotwór zostały naczynia, nerwy i mięśnie, to margines dodatni stwierdzono w 57,14% przypadków, margines bliski w 42,86%, a marginesu ujemnego nie uzyskano. Gdy nie stwierdzono naciekania żadnej z opisanych struktur, margines dodatni określono w 23,08%, bliski w 53,85%, a ujemny uzyskano w 23,00% przypadków. Dokładną analizę przedstawia ryc. 19.



Rycina 18. Wykres przedstawiający zależność pomiędzy liczbą nacieczonych struktur a wzorem naciekania we froncie guza



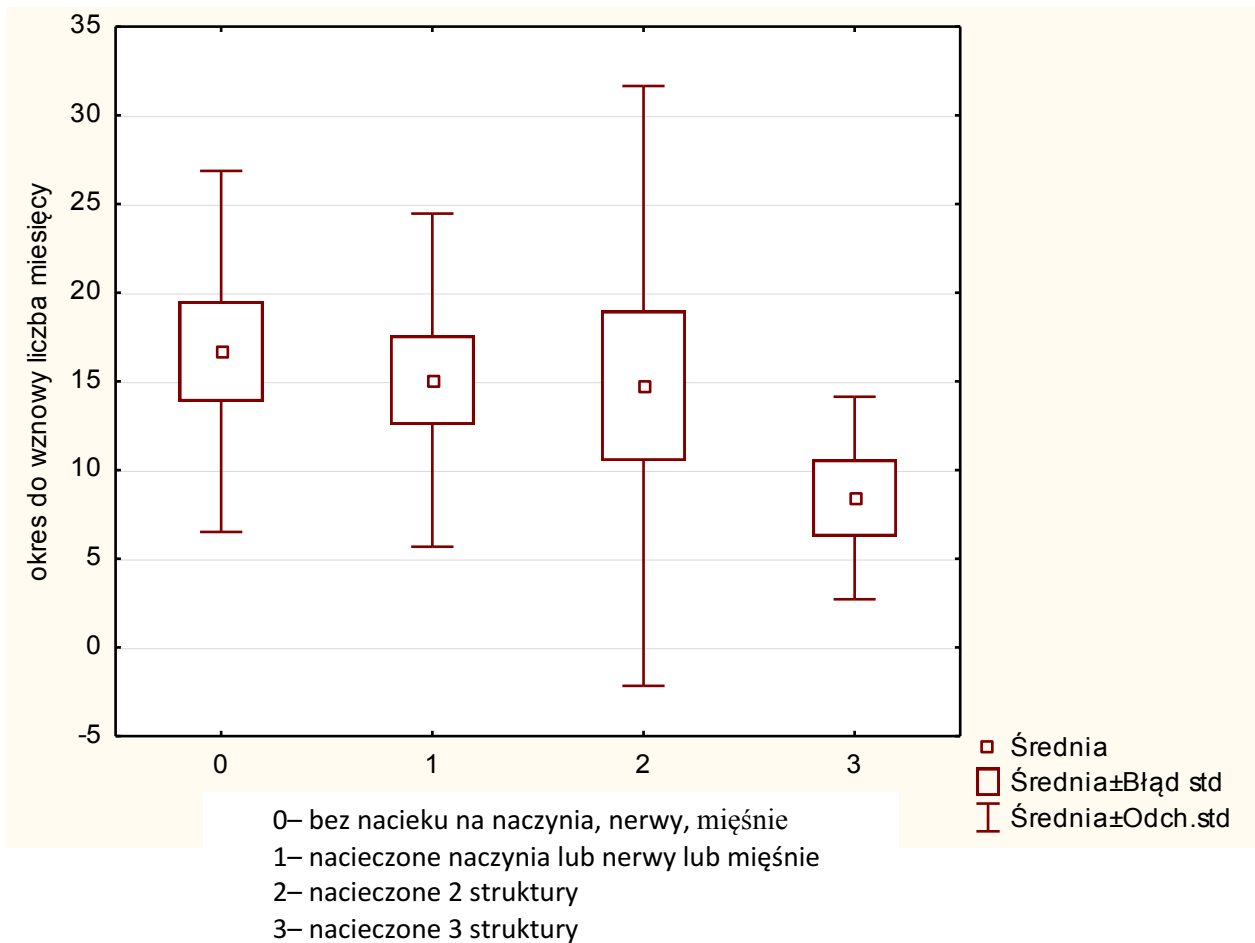


Rycina 19. Wykres przedstawiający zależność pomiędzy liczbą nacieczonych struktur a wielkością marginesu chirurgicznego

Okres wolny od wznovy miejscowej (disease-free survival) ulegał skróceniu wraz z liczbą niszczonej przez nowotwór struktur anatomicznych i był zdecydowanie krótszy przy zajęciu więcej niż dwóch struktur. Dokładny rozkład przedstawia tabela XIX i rycina 20.

Tabela XIX. Zależność długości okresu (od leczenia chirurgicznego do wznowy miejscowej) od liczby nacieczonych przez nowotwór naczyń, nerwów i mięśni

Liczba nacieczonych struktur (naczyń, nerwów i mięśni)	Liczba chorych	Średnia $\bar{x}$ liczba miesięcy do wznowy miejscowej	Mediana	Minimum	Maksimum
0	13	16,69	13,00	4,00	38,00
1	14	15,07	12,50	2,00	35,00
2	16	14,75	10,00	5,00	75,00
3	7	8,43	6,00	4,00	21,00



Rycina 20. Korelacja liczby nacieczonych struktur z okresem od leczenia chirurgicznego do wznowy miejscowej

Po przeprowadzeniu dokładnej analizy statystycznej nie potwierdzono korelacji pomiędzy liczbą nacieczonych naczyń, nerwów i mięśni a wiekiem i płcią chorych.

#### 4.3. Leczenie uzupełniające - radioterapia

Większość (92%) chorych poddanych zostało uzupełniającej radioterapii. 5 (10%) chorych otrzymało leczenie uzupełniające skojarzone, polegające na teleradioterapii połączonej z jednoczasową chemioterapią. U trzech (6%) chorych po zabiegu włączono

teleradioterapię z następową brachyterapią na łożę po usuniętym guzie. U jednej chorej - na życzenie pacjentki - leczenie ograniczono do zabiegu chirurgicznego.

#### **4.4 Wznowa miejscowa**

Czas, po jakim obserwowano wznowę miejscową wynosił od 2 do 75 miesięcy, średnio 14 miesięcy. U 18 (36%) chorych wznowa miejscowa wystąpiła bardzo wcześnie, bo już w pierwszych 12 miesiącach od zabiegu usunięcia zmiany pierwotnej. W tej grupie w 60% przypadków stwierdzono naciekanie dwóch lub trzech ocenianych struktur. Wczesna wznowa miejscowa, obserwowana w pierwszych 12 miesiącach, była bardzo niekorzystnym czynnikiem rokowniczym.

#### **4.5. Grupa kontrolna**

W porównywanej grupie kontrolnej najwyższa była liczba chorych, u których rozpoznano raka płaskonabłonkowego rogowaciejącego w drugim stopniu zróżnicowania - 7 (70%) chorych. Nowotwór w pierwszym stopniu zróżnicowania stwierdzono u 2 (20%) chorych, a raka w trzecim stopniu zróżnicowania, cechującego się najwyższą agresywnością nacieku nowotworowego, rozpoznano u jednego chorego. Zatem w grupie kontrolnej 10 % stanowiły guzy o najniższym stopniu zróżnicowania G3, podczas gdy w grupie badanej stanowiły one 40%.

W ocenie zaawansowania klinicznego choroby posłużono się, podobnie jak w grupie badanej, klasyfikacją TNM. Przeważały guzy w drugim stopniu zaawansowania T2, których rozpoznano 70%. Ponadto włączono dwóch chorych (20%) w pierwszym (T1) i jednego chorego w czwartym (T4) stopniu zaawansowania. U wszystkich chorych, poza jednym wyjątkiem, wykonano radykalną operację układu chłonnego szyi. U czterech chorych układ chłonny operowano po prawej stronie, a u trzech po lewej, usuwając węzły chłonne w polach 1, 2, 3, 4, a wybranych przypadkach również 5. W dwóch przypadkach konieczna była operacja obustronna układu chłonnego szyi. Badanie histologiczne potwierdziło przerzuty do węzłów chłonnych szyi u 6 na 10 chorych. W 4 przypadkach

stwierdzono zaawansowanie N1, a w 2 przypadkach N2. Przerzutów odległych w dniu zabiegu operacyjnego nie stwierdzono – M0.

U wszystkich chorych w grupie kontrolnej- poza jednym wyjątkiem - wdrożono leczenie uzupełniające w postaci radioterapii. U jednego z obserwowanych chorych leczeniem uzupełniającym była brachyterapia. Pacjenci na łożę po usunięciu guza otrzymali od 62 do 70 Gy, średnio 64 Gy. W grupie kontrolnej żaden z chorych nie otrzymał chemioterapii.

U 50% pacjentów włączonych do grupy kontrolnej, u których mimo długiej 4 i 5 - letniej obserwacji nie stwierdzono wznowy miejscowej, nie stwierdzono naciekania naczyń, nerwów i mięśni w badanej tkance nowotworowej. U pozostałych 50% chorych badanie histologicznie ujawniło jedynie naciekanie mięśni, a w 1 przypadku (10%) stwierdzono naciekanie naczyń i mięśni. W grupie badanej odsetek przypadków z potwierdzonym naciekiem mięśni wynosił 68% (34/50 chorych), a naczyń krwionośnych lub limfatycznych 24% (12/50 chorych). W grupie kontrolnej niszczenie włókien nerwowych nie występowało, podczas gdy w grupie badanej nacieki okołonurkowe określono w 42% przypadków (21/50 chorych), a nacieki wewnątrznerwowe w 3% (3/50).

U żadnego z chorych bez wznowy nie stwierdzono naciekania okoł- ani wewnątrznerwowego w tkance nowotworowej.

Głębokość inwazji nacieku nowotworowego wynosiła od 2 do 17 mm- ( $\bar{x}=7,80$  mm; SD: 4,41). Mimo braku wznowy, w grupie kontrolnej również zauważono korelację głębokości nacieku nowotworowego z inwazją naczyń, nerwów i mięśni. Wśród chorych z grupy kontrolnej, u których stwierdzono naciekanie wyłącznie mięśni, średnia głębokość nacieku była wyższa i wynosiła 9,66 mm. Jednocześnie zanotowano porównywalny odsetek guzów o głębokości nacieku >4 mm, który w grupie kontrolnej wynosił 80%, podczas gdy w grupie badanej 78%.

Grupę kontrolną, podobnie jak grupę badaną, oceniono wg wytycznych M. Brandwein-Gensler, w sześciostopniowej skali. W jednym przypadku rozpoznano 1. wzór naciekania, a w dwóch przypadkach 2. wzór naciekania. Najczęściej określanym stopniem

zaawansowania był 3. wzór inwazji, który rozpoznano w sześciu przypadkach. W dwóch przypadkach ujawniono 4. typ naciekania we froncie guza. Nie stwierdzono 5. ani 6. wzoru naciekania cechującego się wysoką agresywnością i złym rokowaniem.

Brak wysokich 4. i 5. wzorów naciekania w grupie kontrolnej wyraźnie korelował z brakiem naciekania więcej niż dwóch ocenianych przez mnie struktur: naczyń, nerwów i mięśni.

Istotną statystycznie różnicę odnotowano w porównywanych grupach chorych w wynikach uzyskanych marginesów. Średnia wartość marginesów chirurgicznych w obrębie błony śluzowej w grupie badanej wyniosła 1,78 mm (SD: 2,41), a w grupie kontrolnej 3,1 mm (SD: 2,37) - w teście Manna-Withneya  $p= 0,0267$ . W marginesach ocenianych od podłoża guza, w grupie chorych, u których wystąpiła wznowa, średnia wynosiła 2,50 (SD: 3,50) – oceniano guz pierwotny. Natomiast w grupie kontrolnej średni margines od podłoża wynosił 6,10 mm (SD: 4,77) –  $p= 0,0060$ .

## 5. Dyskusja

5-letni okres przeżycia dla raków jamy ustnej utrzymuje się na względnie stałym poziomie od 30 lat i wynosi ok. 50%-60% [25, 63, 64, 65]. Według A. Eckardt'a wznowa w guzach jamy ustnej występuje w 28% [66], według R. Gonzalesa w 19% [60], J.J. Fagan i wsp. [67] odnotowali wznowę guzów jamy ustnej sięgającą aż 30%. W opisywanej rozprawie wznowa miejscowa - po radykalnym leczeniu chirurgicznym z uzupełniającą radioterapią - wynosiła 18,8%, co stanowiło 50 przypadków na 266 chorych operowanych z powodu raka języka i dna jamy ustnej. Celem wielu prowadzonych badań jest odnalezienie histologicznych cech, które umożliwiłyby podjęcie próby oceny rokowania.

### 5.1. Margines chirurgiczny

Stosunkowo dużą liczbę publikacji poświęcono ocenie histologicznej marginesu chirurgicznego. Najczęściej margines ujemny określano jako  $>5$  mm. Wiele prac potwierdza negatywny wpływ bliskiego marginesu  $<5$ mm na ryzyko wystąpienia wznowy miejscowej [68, 69, 70]. Margines bliski jest również jednym z czynników prognostycznych, mających wpływ na wdrożenie leczenia uzupełniającego o czym pisze M. Gontarz i wsp. [71]. Inne badania przeprowadzone przez H. Kuritę i wsp. [39] oraz T.C. Chena i wsp. [72], dowodziły braku wpływu występowania marginesu bliskiego  $<5$  mm na ryzyko wznowy miejscowej wśród guzów o niskim stopniu zaawansowania T1 i T2. W przypadku guzów o niskim stopniu zaawansowania, jak podkreślają autorzy, włączenie radioterapii jako leczenia uzupełniającego pozostaje kontrowersyjne. E.A. Dik i wsp. [73], po analizie dwóch grup chorych, w których marginesy chirurgiczne wynosiły 3 mm oraz 5 mm, zauważyli, że okres przeżycia dla guzów T1 i T2 jest porównywalny bez względu na wielkość marginesu. Ponadto P.J. Bradley i wsp. [75] oraz szereg innych autorów [74, 76, 77] uważają, że obecność dysplazji dużego stopnia, podobnie jak nieradykalna resekcja, powoduje wzrost ryzyka wznowy miejscowej. Wartość odległości frontu raka inwazyjnego od tkanki zdrowej, czyli margines chirurgiczny jest wysoko ocenionym czynnikiem prognostycznym w klasyfikacji GRADE (Grading of Recommendations Assessment,

Development and Evaluation) opartej na dowodach naukowych (EBM - Evidence-Based Medicine). W tej klasyfikacji wartość marginesu chirurgicznego zyskała poziom B/C.

Prawidłową ocenę histologiczną preparatów utrudnia kurczenie się brzegów tkanki po usunięciu guza i utrwaleniu w roztworze formaliny, a także podczas mrożenia tkanek przed badaniem śródoperacyjnym. Kurczenie preparatu, szczególnie w obrębie błony śluzowej, może sięgać od 1 do 1,5 mm. W tej sytuacji margines wielkości 5 mm wydaje się bezpieczniejszy niż 3 mm [78].

Ocena marginesu chirurgicznego jest znacznie utrudniona w sytuacji, gdy niemożliwe jest usunięcie guza w całości i konieczna jest resekcja guza we fragmentach. Resekcja wykonywana techniką dośrodkową (ang. multilayer centripetal technique), stosowana w przypadkach guzów masywu szczękowo-sitowego, wykorzystywana jest również podczas operacji guzów jamy ustnej. Dotyczy to szczególnych przypadków, gdy guz nacieka kości lub okolicę zatrzonowcową, okolicę migdałka podniebiennego lub przestrzeni przygardłowej. W takiej sytuacji - przy braku możliwości oceny guza w całości - określenie istotnych prognostycznie histologicznych cech guza ma niezwykle istotne znaczenie.

## **5.2. Wzór inwazji nowotworowej we froncie naciekania**

Tematem stosunkowo wielu prac jest wzór inwazji nowotworu w obrębie frontu naciekania [79, 80, 81, 82, 83]. Jako udowodniony czynnik prognostyczny uzyskał wysoki poziom B (level of evidence) w klasyfikacji GRADE Evidence-Based Medicine. Wzór inwazji raka, szczególnie we froncie naciekania, jako ważny czynnik predykcyjny uznany został po dokładnych wieloośrodkowych badaniach prowadzonych przez M. Brandwein-Gensler i wsp. [59], rozpoczętych w latach 90. oraz prowadzonych wcześniej w 1984 r. przez Crissmana i wsp. [83]. W prowadzonym przeze mnie badaniu wzór inwazji w grupie chorych z naciekaniami nerwów średnio wynosił 4,29, podczas gdy w grupie pacjentów bez naciekania włókien nerwowych był niższy i wynosił średnio 3,14. Udowodniono zatem, że wzór inwazji w obrębie frontu nacieku raka jest silnym czynnikiem prognostycznym, podobnie jak naciekanie nerwów. Jednocześnie zauważono, że jest to cecha niezależna od



zaawansowania klinicznego guza (cechy T). Można zatem sądzić, że wysoki stopień wzoru naciekania guza jest silniejszym czynnikiem warunkującym wznowę niż wielkość guza i jego zaawansowanie T.

Tabela zbiorcza ukazuje obserwacje różnych autorów po analizie cech histologicznych guzów jamy ustnej. W analizowanych pracach ocenie poddane zostały: rogowacenie, wzór inwazji we froncie guza, klasyfikacja Brodersa, głębokość nacieku oraz naciek na włókna nerwowe. W wymienionych pracach badano zależność występowania wznowy od badanych cech histologicznych. Zwraca uwagę fakt, że w badaniach przeprowadzonych przez Odell i wsp. [80], Bundgaard i wsp. [84] oraz Sawair i wsp. [85] ocenę histologiczną przeprowadzono na preparatach biopsyjnych. Szczegółowe wyniki tych badań oraz ich istotność statystyczną ukazuje tabela XX.

Przeprowadzone przeze mnie analizy w oparciu o badania w grupie chorych, u których wykonano radykalną resekcję guza, wykazały istotną statystycznie zależność występowania wznowy miejscowej od typu naciekania we froncie guza, co potwierdził także wskaźnik ilorazu szans. Ponadto udowodniono istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupą chorych ze wznową a chorymi bez wznowy.

Tabela XX. Analiza wyników istotności badanych cech histologicznych

Autor	Liczba chorych	Lokalizacja guza	Badane cechy histologiczne	
			rodzaj cechy	istotność statystyczna cechy
Odell i wsp. [80]	47	język (biopsje)	wzór inwazji	p=0,0195
			rogowacenie	p=0,017
			klasyfikacja Brodersa	p=0,0143
			pleomorfizm komórek	-
			naciekanie naczyń	-
Po i wsp. [89]	72	język (resekcje)	wzór inwazji	-
			rogowacenie	-

			pleomorfizm komórek	-
			głębokość inwazji	-
			naciekanie nerwów	-
Bundgaard i wsp. [84]	78	jama ustna (biopsje)	wzór inwazji	p<0,05
			rogowacenie	-
			pleomorfizm komórek	-
			głębokość inwazji naciekanie naczyń	-
Sawair i wsp. [85]	102	język (biopsje lub resekcje)	wzór inwazji	p=0,012 dla okresu przeżywalności
			rogowacenie	-
Brandwein-Gensler i wsp. [59]	292	jama ustna (resekcje)	wzór inwazji	p=0,002 dla okresu przeżywalności; p=0,0041 dla wznowy miejscowej
Walburton i wsp. [45]	27	jama ustna (resekcje)	wzór inwazji	
			rogowacenie	
			pleomorfizm komórek	p=0,03
			głębokość inwazji 0,5-2,2mm	p=0,003
Szybiak - aktualne badania	50	język i dno jamy ustnej (resekcje)	wzór inwazji	p=0,0109
			głębokość inwazji	p=0,004
			naciekanie nerwów	p=0,0001
			naciekanie mięśni	p<0,0001

M. Brandwein-Gensler dowodzi, że dla małych guzów T1 i T2 istnieje wyraźna zależność pomiędzy wzorem inwazji we froncie guza a wzrostem ryzyka wystąpienia wznowy miejscowej [59].

W badanej przez mnie grupie chorych wykazano ewidentną korelację pomiędzy wznową miejscową a wysokimi wzorami inwazji guza. Jednocześnie ujawniono brak zależności pomiędzy wysokim stopniem inwazji we froncie raka a cechą T. Zatem w przypadku małych guzów wznowa lokalna nie wynikała z ich wielkości, ale z cech histologicznych charakteryzujących się wysoką agresją onkologiczną.

Wykorzystując klasyfikację oceny złośliwości guza, szczególnie w jego froncie naciekania, stwierdzono, że z przebiegiem klinicznym koreluje najgorszy typ naciekania odnotowany w utkaniu guza, niezależnie od obserwowanego pola ocenianego pod mikroskopem przez patologa, podczas gdy przeważający typ naciekania nie wykazywał wartości prognostycznej.

Różnorodność tkanki z pogranicza guza i tkanki zdrowej jest bardzo wysoka. Świadomość istnienia różnego frontu naciekania guza w przypadku raka języka i dna jamy ustnej sprawia, że pojęcie marginesu chirurgicznego może być różne. Inny jest margines chirurgiczny w przypadku guzów o tępych, równym brzegu i inny w przypadku guzów o agresywnym nierównym brzegu z licznymi i długimi wypustkami. W przypadku guzów o niespoistym brzegu guza granica pomiędzy tkanką nowotworu i tkanką zdrową ulega zatarciu i staje się mało wyraźna. Zwrócenie uwagi na ocenę frontu naciekania guza, szczególnie w przypadku raka języka, może mieć kluczowe znaczenie w prognozowaniu 5-letniego przeżycia chorych.

### **5.3. Głębokość nacieku guza**

Wiele niezależnych badań wykazało, że głębokość nacieku nowotworowego jest jedynym wymiarem guza, istotnie wpływającym na przeżywalność chorych z rakiem jamy ustnej. Szczególnie wyraźną zależność potwierdził W. Golusińskiego i wsp. [92] w przypadku guzów  $\leq 4$  cm, czyli w stopniu zaawansowania T1 i T2, co również potwierdza wielu innych autorów [86, 87, 88, 89, 90, 91]. Z aktualnej literatury wynika, że głębokość

guza jest silniejszym czynnikiem prognostycznym wznowy miejscowej i przerzutów do węzłów chłonnych niż średnica guza [89]. Przedstawione wyniki własnych badań potwierdzają obserwacje badaczy, że wartość głębokości guza dobitnie zależy od lokalizacji zmiany w jamie ustnej. Według badań Mohit-Tabatabai i wsp. [93], krytyczna głębokość, od której zależy ryzyko wystąpienia wznowy guzów zlokalizowanych na dnie jamy ustnej wynosi zaledwie 1,5 mm, podczas gdy wartość graniczną dla guzów błony śluzowej policzka ten sam autor ocenia na 6 mm. J.A. Woolgar i wsp. [94] podają mniejszą wartość graniczną dla guzów zlokalizowanych na grzbiecie języka w porównaniu do guzów brzegu języka i wiążą to z naciekaniami naczyń, które są w tej lokalizacji położone płycej. Większość prac powstałych po 1995 r. - podobnie jak badania P. Ambrosi i wsp. [95] - określa 4 mm głębokość nacieku jako wartość, powyżej której istotnie częściej występuje wznowa miejscowa i wzrasta ryzyko przerzutów do węzłów chłonnych. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że głębokość guza powyżej 4 mm, koreluje z większością badanych cech histologicznych omawianych w niniejszej rozprawie.

#### **5.4. Zróżnicowanie komórek guza**

Kolejną cechą, której ocenę podjęto w niniejszej rozprawie, jest zróżnicowanie guza. Zależność pomiędzy zróżnicowaniem guza a wystąpieniem wznowy miejscowej rozpatrywano w kontekście nacieczonych naczyń, nerwów i mięśni. W latach 70. wielu autorów [96, 97, 98, 99] zauważyło korelację pomiędzy histologicznym stopniem zróżnicowania a przeżywalnością chorych. Przez wiele lat uznawano, że raki o stopniu zróżnicowania G1, czyli dobrze zróżnicowane, cechują się lepszym rokowaniem, podczas gdy raki słabo zróżnicowane (G3) rokują gorzej – J. Markowski i wsp. [100]. P.M. Stell i wsp. [101] już w roku 1989 odkryli, że wielkość guza (cecha T) nie jest związana ze stopniem zróżnicowania, a częściej koreluje z przerzutami do węzłów chłonnych. Wznowa miejscowa częściej występuje po leczeniu guzów niskozróżnicowanych. Podobną zależność zauważono w opisywanej rozprawie. Aktualnie większość autorytetów uznaje, że 3-stopniowa skala WHO, wywodząca się ze skali Brodersa niewystarczająco ukazuje

korelację między zróżnicowaniem guza a odpowiedzią pacjenta na leczenie i z przeżywalnością [91, 92, 102]. Zróżnicowanie komórek guza w skali GRADE - EBM zyskało ocenę B/C. Jednakże rokowanie u danego pacjenta należy rozpatrywać indywidualnie i informacja o zróżnicowaniu komórek guza, zawarta w standardowym wyniku badania histopatologicznego, nie jest wystarczająca. Istnieje potrzeba oceny innych, nie mniej ważnych cech histologicznych.

### **5.5. Naciekanie naczyń**

Naciekanie naczyń jest słabym czynnikiem, wpływającym na ryzyko wystąpienia wznowy miejscowej, co potwierdzają wyniki przedstawionej pracy. W grupie ze wznową odsetek guzów z naciekaniami naczyń był wyższy i wynosił 24%, podczas gdy w grupie bez wznowy zaledwie 10%. Po analizie statystycznej nie potwierdzono jednak istotnej statystycznie różnicy w zależności wznowy od tych cech. Naciekanie naczyń, podobnie jak wielkość guza (cecha T), nie korelowały z ryzykiem wystąpienia wznowy miejscowej. Zauważono jednak wyraźną zależność tych cech od ryzyka wystąpienia przerzutów do węzłów chłonnych na szyi, czyli wznową lokoregionalną. Podobną korelację zauważyli M. Gontarz i wsp. [71], M. Suzuki i wsp. [81] oraz S. Poleksic i Kalwaich.J [103]. Naciekanie naczyń w skali GRADE – Evidence-Based Medicine - klasyfikuje się na poziomie D i wymaga dalszych badań potwierdzających wiarygodność tej cechy. Potwierdzono również, że niezależnie od naciekania małych naczyń krwionośnych lub limfatycznych ryzyko przerzutów do węzłów chłonnych jest porównywalne. Niszczenie naczyń przez naciekanie nowotworowe jest rozpoznawane często w guzach o niskim zaawansowaniu T1 i T2. W niniejszej pracy w 24% guzów rozpoznano naciekanie naczyń, z czego aż 42 % guzów sklasyfikowano jako T2. Decyzja o wykonaniu elektywnej operacji układu chłonnego w tych przypadkach jest często trudna i niejednoznaczna. Informacja o naciekanii naczyń, wynikająca ze szczegółowej oceny badania histologicznego, może być argumentem do poszerzenia zabiegu operacyjnego o usunięcie węzłów chłonnych.

## **5.6. Naciekanie nerwów**

Szerzenie się nacieku nowotworowego wzdłuż nerwów, a dokładnie naciekanie okołonerwowe, jest potwierdzonym w wielu pracach czynnikiem predysponującym zarówno do wystąpienia wznowy miejscowej, jak i przerzutów do węzłów chłonnych [59, 104, 105, 106]. Naciekanie wewnątrznerwowe rozpoznawane jest znacznie rzadziej. Potwierdzają to również wyniki mojej pracy, w której nacieki okołonerwowe rozpoznano u 36%, a wewnątrznerwowe potwierdzono zaledwie u 6% w grupie chorych ze wznową miejscową.

J.J. Fagan w badaniach na grupie chorych z rakiem jamy ustnej, gardła środkowego i krtani ujawnił naciekanie nerwów o średnicy  $<1$  mm u 52%. Odsetek wznowy miejscowej w tej grupie chorych wynosił 30%. Fagan potwierdził korelację tej cechy z wystąpieniem wznowy miejscowej, przy jednoczesnym braku związku ze wznową lokoregionalną i występowaniem przerzutów odległych [67]. W tej samej pracy autor podkreśla związek szerzenia się nacieku wzdłuż nerwów z wzorem naciekania.

Naciekanie włókien nerwowych, niezależnie od ich średnicy, jest bardzo wysoko cenionym czynnikiem prognostycznym w klasyfikacji GRADE i zostało ocenione na poziomie B.

W prezentowanej rozprawie u wszystkich chorych z naciekaniami nerwów potwierdzono niespoisty, inwazyjny front raka ( $p=0,0065$ ). Jeśli front naciekania guza był poszarpany, z licznymi wąskimi wypustkami sięgającymi daleko w obręb tkanki zdrowej, to nacieki łatwiej szerzyły się wzdłuż włókien nerwowych, co utrudniało radykalną resekcję i wiązało się z podwyższonym ryzykiem wznowy miejscowej.

## **5.7. Korelacja naciekania naczyń, nerwów i mięśni ze wznową miejscową**

Szczegółowej ocenie poddano naciekanie naczyń, nerwów i mięśni. Problem szerzenia nacieku nowotworowego wzdłuż pni nerwowych lub poprzez naciekanie samych nerwów był wcześniej poruszany w wielu pracach. Kurtz [107] obserwował brak wpływu rozprzestrzeniania się nacieku wzdłuż nerwów, naczyń żylnych i limfatycznych na

przeżycia pięcioletnie. Zauważył jednak związek naciekania nerwów z występowaniem wczesnej wznowy miejscowej.

W mojej pracy naciekanie naczyń, nerwów i mięśni porównano z 10 cechami histologicznymi oraz z danymi klinicznymi. Stwierdzono wyraźną korelację naciekania tych struktur z głębokością inwazji nacieku od błony śluzowej, występowaniem niespójnego, inwazyjnego frontu raka, wymiarem guza, z naciekami na naczynia oraz z naciekami nerwowymi.

U 78% chorych, u których zniszczone nowotworowo były mięśnie, naczynia i nerwy lub naczynia i mięśnie, stwierdzono obecność zatorów z komórek nowotworowych w naczyniach we froncie guza. Chorzy, u których stwierdzono naciekanie nerwów i mięśni lub tylko mięśni, nie cechowali się występowaniem zatorów naczyniowych.

Wszystkie guzy, w których rozpoznano naciekanie naczyń, nerwów i mięśni, charakteryzowały się również naciekami około- lub wewnątrznerwowymi we froncie guza. Natomiast te, w których stwierdzono naciekanie dwóch z ocenianych struktur, cechowały się tylko naciekami okołonerwowymi, nie stwierdzono natomiast komórek nowotworowych wewnątrz włókien nerwowych.

Wszyscy chorzy z naciekaniami zarówno naczyń jak i nerwów oraz mięśni charakteryzowali się 4. lub 5. bardzo agresywnym wzorem inwazji. Zatem zarówno wzór zaproponowany przez M. Brandwein-Gensler, jak i ocena naciekania nerwów, naczyń i mięśni, pozwala wykazać wysoką agresywność nacieku nowotworowego. Jednocześnie określenie naciekania ocenianych przez mnie trzech struktur jest mniej czasochłonne dla patologa, niż klasyfikacja wzoru naciekania we froncie guza.

Z doniesień piśmiennictwa ostatnich 10 lat wynika, że pojawiają się kolejne cechy histologiczne, które w przyszłości mogą mieć znaczenie prognostyczne. Wielu autorów podjęło badania celem określenia wpływu nacieku zapalnego otaczającego guz na występowanie wznowy miejscowej. Rodzaj i stopień nasilenia stanu zapalnego, towarzyszącego martwiczo zmienionej tkance guza niewątpliwie utrudnia uzyskanie właściwego marginesu chirurgicznego i może mieć wpływ na wyleczenie.

Markery molekularne, inwolukryna, czynniki adhezyjne, proliferacja komórkowa, jądrowe DNA, ekspresja inwolukryny, czynniki adhezyjne a także intensywność neoangiogenezy oraz antygeny krążące we krwi są aktualnie tematem wielu badań [108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115]. Czynniki te korelują ze zróżnicowaniem komórkowym, ale według dotychczasowych doniesień nie są istotnymi statystycznie czynnikami prognostycznymi. Obserwacje te wnoszą jednak ważne informacje o biologii guza i odpowiedzi komórkowej na zastosowane leczenie. Prowadzone są również badania genetyczne, wskazujące znaczną różnorodność komórkową i dające możliwość terapii celowanej w przyszłości.

Powodzenie procesu terapeutycznego zależy zarówno od cech zależnych od guza, jak również od pacjenta oraz od metody wybranej terapii. Związek pomiędzy cechami guza a okresem przeżycia chorego w dużej mierze zależy od lokalizacji guza, zaawansowania przerzutów do węzłów chłonnych, a także od rozmiaru i zaawansowania klinicznego (staging) w momencie diagnozy. Dokładna ocena cech histologicznych guza, takich jak: naciekanie nerwów, naczyń, mięśni a także typu inwazji raka we fronsie naciekania i głębokości nacieku, jak potwierdziły wyniki opisywanej rozprawy, umożliwia trafniejszą ocenę złośliwości guza. Na ostateczny efekt leczenia i jakość życia po zakończonej terapii mają wpływ zdolności chirurga do uzyskania właściwych marginesów chirurgicznych oraz możliwości rekonstrukcji ubytku tkanek po przeprowadzonej resekcji. Podjęcie decyzji o leczeniu uzupełniającym, polegającym na radio(chemio)terapii, wynikające ze znajomości potencjału złośliwości guza, jest kluczowe dla zmniejszenia ryzyka wystąpienia wznowy [34, 70, 116, 117, 118]. Nie ma możliwości wpłynięcia na cechy guza ani na cechy pacjenta, jak wiek czy płeć, ale jeśli istnieje możliwość wpłynięcia na którykolwiek etap procesu terapeutycznego celem poprawy wyników leczenia, to należałoby kontynuować dalsze badania na większej grupie chorych celem potwierdzenia przeprowadzonych w tej rozprawie analiz.



## 6. Wnioski

1. Dynamika rozwoju choroby nowotworowej w jamie ustnej, w znacznej mierze zależy od cech histologicznych.
2. Częstość naciekania naczyń, nerwów i mięśni koreluje z cechami agresywności we froncie guza.
3. Naciekanie naczyń, nerwów i mięśni wskazuje na wysoką agresywność guza pierwotnego i jest niepomyślnym czynnikiem ryzyka wystąpienia wznowy miejscowej.
4. Zajęcie naczyń przez nacieki nowotworowe ma szczególny wpływ na występowanie przerzutów regionalnych i może służyć jako cecha decydująca o podjęciu decyzji o elektywnej operacji układu chłonnego w przypadku guzów jamy ustnej o niskim stopniu zaawansowania narządowego T1 i T2.
5. Poszerzone badanie histologiczne pozwala na ocenę ryzyka wystąpienia wznowy miejscowej i może mieć decydujący wpływ na wybór leczenia uzupełniającego w postaci radio i/ lub chemioterapii.

## **Streszczenie**

### **Wstęp**

Rak jamy ustnej jest drugim najczęściej występującym nowotworem głowy i szyi w Polsce. Obserwuje się stały wzrost zachorowalności na nowotwory języka i dna jamy ustnej. Najczęściej, bo aż w 40% przypadków, nowotwory złośliwe jamy ustnej są zlokalizowane na języku. Częstą przyczyną niepowodzenia w leczeniu raka jamy ustnej jest wznowa miejscowa.

### **Cel pracy**

Celem pracy jest odpowiedź na pytanie, dlaczego pomimo radykalnego leczenia chirurgicznego skojarzonego z radiochemioterapią, częstość występowania wznowy miejscowej jest nadal bardzo wysoka.

### **Material i metody**

Badaniem objęto grupę 50 chorych, u których wystąpiła wznowa miejscowa raka języka i dna jamy ustnej. Chorych wyłoniono spośród 266 operowanych w latach 2007-2016 w Klinice Chirurgii Głowy, Szyi i Onkologii Laryngologicznej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, w Wielkopolskim Centrum Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie. Odsetek wznów wynosił 18,8%. 36 chorych (72%) stanowili mężczyźni, a 14 (28%) kobiety. Średnia wieku chorych wynosiła 57,18 lat; średnia wieku mężczyzn - 54,50, a kobiet - 64,07 lat. U 50 pacjentów, u których wystąpiła wznowa miejscowa przeprowadzono poszerzone badanie histopatologiczne na podstawie wytycznych Konsensusu Patologów Brytyjskich. 10-osobową grupę kontrolną stanowili losowo wybrani chorzy, u których uzyskano całkowite wyleczenie i nie wystąpiła wznowa choroby nowotworowej.

### **Wyniki**

U 10 (20%) pacjentów, u których rozpoznano wznowę miejscową stwierdzono naciekanie wszystkich ocenianych struktur. W 13 (26%) przypadkach stwierdzono naciekanie 2 ocenianych struktur, a w 14 (28%) tylko jednej z ocenianych struktur. Stwierdzono wysoką korelację pomiędzy agresywnością nacieku nowotworowego wyrażoną inwazją mięśni, naczyń i nerwów a głębokością inwazji od błony śluzowej oraz wzorem inwazji

nowotworowej zaproponowanym przez M. Brandwein-Gensler. Wzór inwazji raka był silnym czynnikiem prognostycznym, niezależnym od zaawansowania klinicznego guza (cechy T). Ujawniono wyraźną korelację występowania wznowy miejscowej od liczby nacieczonych struktur. Ponadto stwierdzono, że naciekanie naczyń, nerwów i mięśni ma wyraźny wpływ na okres od zabiegu resekcji do wystąpienia wznowy miejscowej. Zdecydowaną korelację ujawniono pomiędzy naciekaniem naczyń, a występowaniem przerzutów do węzłów chłonnych na szyi.

### **Wnioski**

Dynamika rozwoju choroby nowotworowej w znacznej mierze zależy od cech histopatologicznych. Naciekanie naczyń, nerwów i mięśni wskazuje na wysoką agresywność guza pierwotnego i jest niepomysłnym czynnikiem ryzyka wystąpienia wznowy miejscowej. Zajęcie naczyń przez naciek nowotworowy ma szczególny wpływ na występowanie przerzutów regionalnych i może służyć jako cecha decydująca o podjęciu decyzji o elektywnej operacji układu chłonnego. Poszerzone badanie histologiczne, pozwala na ocenę ryzyka wystąpienia wznowy miejscowej i może mieć decydujący wpływ na wybór leczenia uzupełniającego.

### **Słowa kluczowe**

rak języka i dna jamy ustnej, wznowa miejscowa, poszerzone badanie histopatologiczne

## **SUMMARY**

### **The role of extended histological evaluation in oral cancer patients with local recurrences**

#### **Introduction**

Oral cancer is the second most prevalent head and neck malignancy in Poland. The incidence of these types of cancer is constantly growing. Almost 40 % of the oral cancers are located on the tongue. A reason for a failure in treatment of the mouth cancer is local recurrence.

#### **Aim of the study**

To find out why the rate of local recurrence of the oral cancer is so high despite the radical surgical treatment combined with radio- or radiochemotherapy.

#### **Materials and methods**

The study comprised of a group of 50 patients with local recurrence of the tongue and floor of the mouth cancer. The group was selected from 266 of surgically treated patients. The local recurrence rate was 18,8%. 36 (72%) of patients were men, and 14 (28%) were women. The mean age of patients was 57 years. The mean age of men was 55 and women was 64 years. In all patients with local recurrence extended histological examination under the guidance of the British Pathologists Consensus was conducted. Control group was randomly chosen and consists of 10 patients who achieved a complete cure, and there was no recurrence of cancer.

#### **Results**

In 10 (20%) patients, primary tumors were found to be histologically aggressive as indicated by the infiltration of the vessels, nerves and muscles. In 13 (26%) cases, the cancer infiltrated both the vessels and nerves or the vessels and muscles, and in 14 (28%) other cases, only one of above mentioned structures. The infiltration of the vessels, nerves and muscles correlates with depth of invasion and pattern of invasion proposed by M. Brandwein- Gensler. The latter is regarded as a strong prognostic factor.

The pattern of invasion turned out to be a strong prognostic factor, independent of the clinical stage of the tumor (T stage). There is correlation between the local recurrence rate and the number of infiltrated structures. Moreover, the infiltration of vessels, nerves and muscles clearly affected the period to recurrence. The correlation was noticed between infiltration of vessels and the presence of metastasis to lymph nodes in the neck.

### **Conclusion**

The progression of cancer depends strongly on histopathological features. Infiltration of vessels, nerves and muscles indicates high aggressiveness of the primary tumor and is negative prognostic risk factor for local recurrence. Invasion of vessels correlates with regional metastasis and may influence the decision of performing the elective neck surgery. Extended histological examination allows the assessment of the risk of local recurrence and may influence choice of adjuvant therapy.

### **Key words**

tongue and floor of the mouth cancer, local recurrence, extended histopathological examination

## **Spis tabel i rycin**

### **Tabele**

Tabela I. Odsetek 5-letniego przeżycia w określonych lokalizacjach regionu głowy i szyi [cyt. za 83]

Tabela II. Skala Brodersa

Tabela III. Wiek chorych ze wznową raka języka i dna jamy ustnej

Tabela IV. Głębokość nacieku raka w grupie chorych ze wznową

Tabela V. Zależność głębokości naciekania guza od wielkości guza (cecha T)

Tabela VI. Zależność głębokości naciekania guza od zaawansowania przerzutów do węzłów chłonnych (cecha N)

Tabela VII. Zależność głębokości naciekania guza od zróżnicowania komórek guza (G)

Tabela VIII. Częstość występowania cech histologicznych w zależności od głębokości nacieku nowotworowego

Tabela IX. Zależność marginesów dodatnich, bliskich i ujemnych w obrębie błony śluzowej od głębokości nacieku guza

Tabela X. Zależność głębokości nacieku guza od marginesów dodatnich, bliskich i ujemnych w od podłoża

Tabela XI. Wzór naciekania we froncie guza w grupie chorych ze wznową miejscową

Tabela XII. Zróżnicowanie komórek guza (G) w grupie chorych z naciekaniem oraz bez naciekania nerwów

Tabela XIII. Występowanie inwazyjnego frontu raka u chorych z naciekaniem nerwów

Tabela XIV. Zależność naciekania nerwów od marginesów dodatnich, bliskich i ujemnych w obrębie błony śluzowej

Tabela XV. Zależność naciekania nerwów od marginesów dodatnich, bliskich i ujemnych od podłoża

Tabela XVI. Zaawansowanie guza (cecha T) w grupie chorych z naciekaniem oraz bez naciekania nerwów

Tabela XVII. Okres od leczenia chirurgicznego do wznowy miejscowej w grupie chorych z naciekami na nerwy

Tabela XVIII. Zależność naciekania włókien mięśniowych od wielkości guza (cecha T)

Tabela XIX. Zależność długości okresu (od leczenia chirurgicznego do wznowy miejscowej) od ilości nacieczonych przez nowotwór naczyń, nerwów i mięśni

Tabela XX. Analiza wyników istotności badanych cech histologicznych

## **Ryciny**

Rycina 1. Głębokość nacieku guza

Rycina 2. Zależność głębokości nacieku nowotworowego od rodzaju raka:

rogowaciejącego (keratodes) i nierogowaciejącego (akeratodes) ( $p=0,63$ )

Rycina 3. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 40. Widoczny „tępy” brzeg guza na granicy frontu naciekania- 1. typ naciekania

Rycina 4. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 10. Wzór naciekania – typ 2

Rycina 5. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 10. Wzór naciekania – typ 3

Rycina 6. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 40. Wzór naciekania – typ 4

Rycina 7. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 40. Wzór naciekania - typ 5

Rycina 8. Fragment guza jamy ustnej w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 40. Wzór naciekania – typ 6

Rycina 9. Wykres ilustrujący korelację pomiędzy głębokością nacieku nowotworowego a wzorem naciekania we froncie guza

Rycina 10. Fragment guza języka w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 40. Naciekanie okołonерwowe

Rycina 11. Fragment guza języka w rutynowym badaniu H+E. Powiększenie obiektywu x 40. Naciekanie wewnętrznerwowe

Rycina 12. Wykres ilustrujący zależność pomiędzy średnią wieku a nacieczonymi przez nowotwór włóknami nerwowymi

Rycina 13. Fragment guza języka- barwienie H+E, powiększenie x 40. Naciekanie naczyń

Rycina 14. Fragment guza języka- barwienie H+E, powiększenie x 40. Naciekanie mięśni

Rycina 15. Wykres ilustrujący średnią różnicę pomiędzy głębokością naciekania guza w grupach chorych z niszczeniem mięśni i bez naciekania na mięśnie

Rycina 16. Korelacja ilości nacieczonych struktur z głębokością nacieku raka

Rycina 17. Wykres przedstawiający zależność pomiędzy ilością nacieczonych struktur a głębokością nacieku raka

Rycina 18. Wykres przedstawiający zależność pomiędzy liczbą nacieczonych struktur a wzorem naciekania we froncie guza

Rycina 19. Wykres przedstawiający zależność pomiędzy liczbą nacieczonych struktur a wielkością marginesu chirurgicznego

Rycina 20. Korelacja liczby nacieczonych struktur z okresem od leczenia chirurgicznego do wznowy miejscowej



## PIŚMIENNICTWO

- [1] Ferlay J., Shin H.R., Bray F., Forman D., Mathers C., Parkin D.M., Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int. J. Cancer* 2010; 127: 2893 - 2917.
- [2] Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D. Global cancer statistics. *CA. Cancer J. Clin.* 2011; 61: 69 - 90.
- [3] Neville B.W., Day T.A. Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J. Clin.* 2002; 52: 195 - 215.
- [4] Shiboski C.H., Schmidt B.L., Jordan R.C. Tongue and tonsil carcinoma: increasing trends in the U.S. population ages 20-44 years. *Cancer* 2005; 103: 1843 - 1849.
- [5] Gorsky M., Epstein J.B., Oakley C., Le N.D., Stevenson-Moore P. Carcinoma of the tongue: a case series analysis of clinical presentation, risk factors, staging, and outcome. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral.* 2004; 88: 546 - 552.
- [6] Carton M., Barul C., Menvielle G., Cyr D., Sanchez M., Pilorget C., Trétarre B., Stücker I., Luce D. Occupational exposure to solvents and risk of head and neck cancer in women: a population-based case - control study in France. *BMJ Open.* 2017; 9; 7 (1): e012833. doi: 10.1136 / bmjopen - 2016 - 012833.
- [7] Shah J., Patel S., Singh B. *Chirurgia i onkologia głowy i szyi. T. 1-2. 2014. Red. wyd. pol. Wojciech Golusiński Elsevier Urban & Partner, Wrocław.*
- [8] Gillison M.L., Koch W.M., Capone R.B., Spafford M., Westra W.H., Wu L. et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000; 92: 709 - 720.
- [9] D.P. Slaughter, H.W., Southwick, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 1953; 5: 963 - 968
- [10] Zielińska-Kaźmierska B., Tyndorf M., Arkuszewski P., Grodecka J. Pierwotne nowotwory złośliwe języka. *Współcz. Onkol.* 2006; 10:521 - 524.

- [11] Furniss C.S., McLean M.D., Smith J.F., Bryan J., Nelson H.H., Petes E.S. et al. Human Papillomavirus 16 and head and neck squamous cell carcinoma. *Int. J. Cancer*. 2007; 120: 2386 - 2392.
- [12] Sturgis E.M., Cinciripini P.M. Trends in head and neck cancer incidence in relations to smoking prevalence: an emerging epidemic of human papillomavirus- associated cancers? *Cancer* 2007; 110: 1429 - 1435.
- [13] Chaturvedi A.K., Engels E.A., Anderson W.F., Gillison M.L. et al. Incidence trends of human papillomavirus- related and- unrelated squamous cell carcinomas in the United States. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 612 - 619.
- [14] Liang X.H., Lewis J., Foote R., Smith D., Kademani D. Prevalence and significance of human papillomavirus in oral tongue cancer: the Mayo Clinic experience. *J. Oral. Maxillofac Surg.* 2008; 66: 1875 - 1880.
- [15] Herrero R., Castellsague X., Pawlita M., Lissowska J., Kneep F., Balaram P., et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J. Natl. Cancer Inst.* 2003; 95: 1772 - 1783.
- [16] Dahlgren., Dahlstrand H.M., Lindquist D., Munck-Wikland E., Dalianis T. Human papillomavirus is more common in base of tongue than in mobile tongue cancer and is favorable prognostic factor in base of tongue cancer patients. *Int. J. Cancer* 2004; 112: 1015 - 1019.
- [17] Kreimer A.R., Clifford G.M., Boyle P., Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systemic review. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2005; 14: 467 - 475.
- [18] Da Silva C.E., Da Silva I.D., Cerri A., Weckk L.L. Prevalence of human papillomavirus in squamous cell carcinoma of the tongue. *Oral. Radiol. Endod.* 2007; 104: 497 - 500.
- [19] Kreimer A.R., Alberg A.J., Daniel R., Gravitt P.E., Viscidi R., Garrett S.S., et al. Oral human papillomavirus infection in adults is associated with sexual behaviour and HIV serostatus. *J. Infect. Dis.* 2004; 189: 686 - 698.

- [20] Gillison M.L., D'Souza G., Westra W., Sugar E., Xiao W., Begum S., Viscidi R.. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers J. Natl. Cancer Inst. 2008; 100: 407 - 420.
- [21] Schwartz S.M., Daling J.R., Doody D.R., Wipf G.C., Carter J.J., Madeleine M.M., et al. Oral cancer risk in relations to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. J. Natl. Cancer Inst. 1998; 90: 1626 - 1636.
- [22] Szybiak B., Trzeciak P., Golusiński W. Role of extended histological examination in assessment of local recurrence of tongue and floor of the mouth cancer. Rep. Pract. Oncol. Radiother.. 2012; 17: 319 - 323.
- [23] Begum S., Gillison M.L., Nicol T.L., Westra W.H. Detection of human papillomavirus-16 in fine-needle aspirates to determine tumor origin in patients with metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. Clin. Cancer Res. 2007; 13: 1186 - 1191.
- [24] Goldenberg D., Begum S., Westra W.H., Khan Z., Sciubba J., Pai S.I., et al. Cystic Lymph node metastasis in patients with head and neck cancer: An HPV-associated phenomenon. Head Neck 2008; 30: 898 - 903.
- [25] Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M.J. Cancer statistics, 2009. CA Cancer J. Clin. 2009; 59: 225 - 249.
- [26] Mao L., Hong W.K., Papadimitrakopoulou V.A. Focus on head and neck cancer. Cancer Cell 2004; 5: 311 - 316.
- [27] Goto M., Hanai N., Ozawa T., Hiriakawa T., Suzuki H., Hyodo I. et al. Prognostic factors and outcomes for salvage surgery in patients with recurrent squamous cell carcinoma of the tongue. Asia-Pac J. Clin. Oncol. .2016; 12: e141 - e148
- [28] Lacy P.D., Spitznagel E.L. Jr, Piccirillo J.F. Development of a new staging system for recurrent oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Cancer 1999; 86: 1387 - 1395.

- [29] Schwartz G.J., Mehta R.H., Wenig B.L., Shaligram C., Portugal L.G. Salvage treatment for recurrent squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Head Neck* 2000; 22: 34 - 41.
- [30] Brandwein-Gensler M., Teixeira M.S., Lewis C.M., Lee B, Rolnitzky L., Hille J.J., et al. Oral squamous cell carcinoma: histological risk assessment, but not margin status, is strongly predictive of local disease-free and overall survival. *Am J. Surg. Pathol.* 2005; 29: 167 - 178.
- [31] Iseli T.A., Lin M.J., Tsui A., Guiney A., Wiesenfeld D., Iseli C.E. Are wider surgical margins needed for early oral tongue cancer? *J Laryngol. Otol.* 2012; 126: 289 - 294.
- [32] Girardi F.M., Zanella V.G., Kroef R.G. Correlation between clinical and pathological data and surgical margins in patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Braz. J. Otorhinolaryngol.* 2013; 79: 190 - 195.
- [33] Batsakis J.G. Surgical excision margins: a pathologist's perspective. *Adv. Anat. Pathol.* 1999; 6: 140 - 148.
- [34] Woolgar J.A., Triantafyllou A. A histopathological appraisal of surgical margins in oral and oropharyngeal cancer resection specimens. *Oral Oncol.* 2005; 41: 1034 - 1043.
- [35] Byers R.M., Bland K.I., Borlase B., Luna M. The prognostic and therapeutic value of frozen section determinations in the surgical treatment of squamous carcinoma of the head and neck. *Am. J. Surg.* 1978; 136: 525 - 528.
- [36] Richardson M.S., Barnes L., Carlson D.L., Chan J., Ellis G., Harrison L.B., et al. Protocol for the examination of specimens from patients with carcinomas of the lip and oral cavity. College of American Pathologists (CAP) 2012; .3.1.0.2.
- [37] Hintz B.L., Kagan A.R., Nussbaum H., Rao A.R., Chan P.Y., Miles J. A 'watchful waiting' policy for in situ carcinoma of the vocal cords. *Arch. Otol.* 1981; 107: 746 - 751.
- [38] Boyle J.O., Hakim J., Koch W., Vandes Riet P., Hruban R.H., Roa R.A., et al. The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. *Cancer Res.* 1993; 53: 4477 - 4480.

- [39] Kurita H., Nakanishi Y., Nishizawa R., Xiao T., Kamata T., Kaike T., Kobayashi H. Impact of different surgical margin conditions on local recurrence of oral squamous cell carcinoma. *Oral oncology*. 2010; 46: 814 – 817.
- [40] Broders A.C. Carcinoma grading and practical application. *Arch. Pathol.* 1976; 2: 376 - 381.
- [41] Jakobsson P.A., Eneroth C.M., Killander D., Moberger G., Matensson B. Histologic classification and grading of malignancy in carcinoma of the larynx. *Acta Radiol. Ther. Phys. Biol.* 1973; 12: 1 - 8.
- [42] Crissman J.D., Zarbo R.J. Squamous cell carcinoma of the upper aero-digestive tract: histologic parameters with prognostic value. In: *Head and Neck Cancer; Vol.2.* Ed. By Willard E. Fee et al. Decker, Toronto 1990.
- [43] Ferlito A., Friedman I. Poorly- differentiated laryngeal malignances. *ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.* 1990; 52: 63 - 64
- [44] Malaise E.P., Chavadura N., Tubiana M. The relationship between growth rate, labeling index and histological type of human solid tumors. *Eur. J. Cancer.* 1973; 9: 305 - 312.
- [45] Glanz H.K. Carcinoma of the larynx. Growth p-classification and grading of squamous cell carcinoma of the vocal cords. *Adv. Otorhinolaryngol.* 1984; 32: 1 - 123.
- [46] Yuen A.P., Wei W.I., Wong S.H., Ng R.W. Local recurrence of carcinoma of the tongue after glossectomy: patient prognosis. *Ear Nose Throat J.* 1998; 77: 181 - 184.
- [47] Davidson B.J., Root W.A., Trock B.J. Age and survival from squamous cell carcinoma of the oral tongue. *Head Neck.* 2001 23: 273 - 279.
- [48] Fukano H., Matsuura H., Hasegawa Y., Nakamura S. Depth of invasion as a predictive factor for cervical lymph node metastasis in tongue carcinoma. *Head Neck.* 1997;19: 205 - 210.
- [49] Sparano A., Weinstein G., Chalian A., Yodul M., Weber R. Multivariate predictors of occult neck metastasis in early oral tongue cancer. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2004; 131: 472 - 476

- [50] Keski-Santti H., Atula T., Tikka J., Hollmen J., Makitie A.A., Leivo I. Predictive value of histopathologic parameters in early squamous cell carcinoma of oral tongue. *Oral Oncol.* 2007; 43: 1007 - 1013.
- [51] Szybiak B., Korski K., Golusiński W. Rola poszerzonego badania histologicznego w ocenie wznowy miejscowej nowotworów jamy ustnej. *Otolaryngol. Pol.* 2015; 69: 17 - 21.
- [52] Kernohan M.D., Clark J.R., Gao K., Ebrahimi A., Milross C.G. Predicting the prognosis of oral squamous cell carcinoma after first recurrence. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2010; 136: 1235 - 1239.
- [53] Davidson J., Keane T., Brown D., Freeman J., Gullane P., Irish J., et al. Surgical salvage after radiotherapy for advanced laryngopharyngeal carcinoma. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 1997; 123: 420 - 424.
- [54] Agra I.M., Carvalho A.L., Ulbrich F.S., deCampos O.D., Martines E.P., Margin J., Kowalski L.P. Prognostic factors in salvage surgery for recurrent oral and oropharyngeal cancer. *Head Neck* 2006; 28: 107 - 113.
- [55] Agra I.M., Carvalho A.L., Pinto C.A., Martines E.P., Filho J.G., Soares F.A., Kowalski L.P. Biological markers and prognosis in recurrent oral cancer after salvage surgery. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2008; 134: 743 - 749.
- [56] Golusiński W. Prognozowanie w rakach płaskonabłonkowych głowy i szyi na podstawie oceny proliferacji komórek nowotworowych. *Postępy w chirurgii głowy i szyi.* 2003; 2: 3 - 20.
- [57] Welkoborsky H.J., Hinni M., Dienes H.P. Predicting recurrence and survival in patients with laryngeal cancer by means of DNA cytometry, tumor front grading, and proliferation markers. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 1995; 104: 503 - 510.
- [58] 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. Craniomaxillofac. Surg.* 1991; 19: 314 - 318.

[59] Brandwein-Gensler M., Smith R.V., Wang B., Penner C., Theilken A., Broughel D. et al. Validation of the histologic risk model in a new cohort of patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2010; 34: 676 - 688.

[60] Gonzalez-Garcia R., Naval-Gias L., Roman-Romero L., Sastre-Perez J., Rodriguez-Campo F.J. Local recurrences and second primary tumors from squamous cell carcinoma of the oral cavity: a retrospective analytic study of 500 patients. *Head Neck* 2009; 31: 1168 - 1180.

[61] Warren S., Gates O.. Multiple primary malignant tumors: A survey of the literature and statistical study. *Am. J. Cancer* 1932; 16: 1358 - 1414.

[62] Kademani D., Bell R.B., Bagheri S., Holmgren E., Dierks E., Potter B., Homer I. Prognostic factors in intraoral squamous cell carcinoma: The influence of histologic grade. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2005; 63: 1599 -1605.

[63] Neville B.W., Day T.A. Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J. Clin.* 2002; 52: 195 - 215.

[64] Biesaga Ł., Bakalarz A., Janas A. Nowotwory złośliwe jamy ustnej w materiale Zakładu Chirurgii Stomatologicznej UM w Łodzi. *E-Dentico* 2012 (1): 84 - 89.

[65] Mao L., Hong W.K., Papadimitrakopoulou V.A. Focus on head and neck cancer. *Cancer Cell.* 2004; 5: 311 - 316.

[66] Eckardt A. Clinical impact of synchronous and metachronous malignancies in patients with oral cancer. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1993; 22: 282 - 284.

[67] 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. Head Neck Surg.* 1998; 124: 637 - 640.

[68] Hinni M., Ferlito A., Brandwein-Gensler M.S., Takes R.P., Silver C.E., Westra W.H., et al. Surgical margins in head and neck cancer: a contemporary review. *Head Neck.* 2013; 35: 1362 - 1370.

[69] 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.

[70] Sutton D.N., Brown J.S., Rogers S.N., Vaughan E.D., Woolgar J.A. The prognostic implications of the surgical margin in oral squamous cell carcinoma. *Int. J. Oral Maxillofac Surg.* 2003; 32: 30 - 34.

[71] Gontarz M., Wszyńska – Pawelec G., Zapala J. Clinico – pathological predictive factors in squamous cell carcinoma of the tongue and floor of the mouth. *Folia Med. Crac.* 2013; 53: 73 - 86.

[72] Chen T.C., Wang C.P., Ko J.Y., Yang T.L., Lou P.J. The impact of pathologic close margin on the survival of patients with early stage oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2012; 48: 623 - 628.

[73] Dik E.A., Willems S.M., Ipenburg N.A., Adriaansens S.O., Rosenberg A.J., van Es R.J. Resection of early oral squamous cell carcinoma with positive or close margins: relevance of adjuvant treatment in relation to local recurrence: margins of 3 mm as safe as 5 mm. *Oral Oncol.* 2014; 50: 611 - 615.

[74] Slootweg P.J., Hordijk G.J., Schade Y., van Es R.J., Koole R. Treatment failure and margin status in head and neck cancer. A critical view on the potential value of molecular pathology. *Oral Oncol.* 2002; 38: 500 - 503.

[75] Bradley P.J., MacLennan K., Brakenhoff R.H., Leemans C.R. Status of primary tumor surgical margins in squamous head and neck cancer: prognostic implications. *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2007; 15: 74 - 81.

[76] Laskar S.G., Agarwal J.P., Srinivas C., Dinshaw K.A. Radiotherapeutic management of locally advanced head and neck cancer. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2006; 6: 405 - 417.

[77] Langendijk J.A., Ferlito A., Takes R.P., Rodrigo J.P., Suarez C., Strojan P. et al. Postoperative strategies after primary surgery for squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncol.* 2010; 46: 577 - 585.

[78] Mistry R.C., Qureshi S.S., Kumaran C. Post-resection mucosal margin shrinkage in oral cancer: quantification and significance. *J. Surg. Oncol.* 2005; 91: 131 - 133.



- [79] Bryne M., Koppang H.S., Lilleng R., Stene T., Bangs G., Dabelsteen E.. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broder's grading in oral squamous cell carcinomas. *J. Oral Pathol. Med.* 1989; 18: 432 - 437.
- [80] Odell E.W., Jani P., Sherriff M., Ahluwalia S.M., Hibbert J., Levison D.A. et al. The prognostic value of individual grading parameters in small lingual squamous cell carcinomas. The importance of the pattern of invasion. *Cancer* 1994; 74: 789 - 794.
- [81] Suzuki M., Suzuki T., Asai M., Ichimura K., Nibu K., Sugawara M. et al. Clinicopathological factors related to cervical lymph node metastasis in a patient with carcinoma of the oral floor. *Acta Otolaryngol. Suppl.* 2007; 559; 129 - 135.
- [82] Bryne M., Nielsen K., Koppang H.S., Dabelsteen E.. Reproducibility of two malignancy grading systems with reportedly prognostic value for oral cancer patients. *J. Oral Pathol. Med.* 1991; 20: 369–372.
- [83] Crissman J.D., Liu W.Y., Gluckman J.L., Cummings G. Prognostic value of histopathologic parameters in squamous cell carcinoma of the oropharynx. *Cancer* 1984; 54: 2995 - 3001.
- [84] Bundgaard T., Rossen K., Henriksen S.D., Charabi S., Sogaard H., Gran C. Histopathologic parameters in the evaluation of T1 squamous cell carcinomas of the oral cavity. *Head Neck.* 2002; 24: 656 - 660.
- [85] Sawair F.A., Irwin C.R., Gordon D.J., Leonard A.G., Stephenson M., Napier S.S. Invasive front grading: reliability and usefulness in the management of oral squamous cell carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.* 2003; 32: 1 - 9.
- [86] Shinfhaki S., Suzuki I., Wakajima T. Evaluation of histopathologic parameters in predicting cervical lymph node metastasis of oral and oropharyngeal carcinomas. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1988; 66: 683 - 688.
- [87] Nathanso A., Agren K. Evaluation of some prognostic factors in small squamous cell carcinoma of the mobile tongue: a multicenter study in Sweden. *Head Neck* 1989; 11: 387 - 392
- [88] Baredes S., Leeman D.J., Chen T.S. Significance of tumor thickness in soft palate carcinoma. *Laryngoscope* 1983; 103: 389 - 393.

- [89] Po Wing Yuen A., Lam K.Y., Lam L.K., Ho C.M., Wong A., Chow T.L., et al. Prognostic factors of clinically stage I and II oral tongue carcinoma - a comparative study of stage, thickness, shape, growth pattern, invasive front malignancy grading, Martinez-Gimenco score, and pathologic features. *Head Neck* 2002; 24: 513 - 520.
- [90] Gonzales-Moles M.A., Esteban F., Rodriguez-Archilla A., Ruiz-Avila I., Gonzales-Moles S. Importance of tumor thickness measurement in prognosis of tongue cancer. *Oral Oncol.* 2002; 38: 394 - 397.
- [91] O-charoenrat P., Pillai G., Patel S., Fisher C., Archer D., Eccles S., et al. Tumor thickness predicts cervical nodal metastases and survival in early tongue cancer. *Oral Oncol.* 2003; 39: 386 - 390.
- [92] Golusiński W., Waśniewska E., Jarmołowska – Jurczyszyn D., Majewski P. Cechy histologiczne raków języka i dna jamy ustnej a prognozowanie kliniczne. *Otolaryngol. Pol.* 2006; 60: 823 – 827.
- [93] Mohit-Tabatabai M.A., Sobel H.J., Rush B.F., Mashberg A. Relation of thickness of floor of the mouth stage I and II cancers to regional metastasis. *Am. J. Surg.* 1986; 152: 351 - 353.
- [94] Woolgar J.A., Scott J. Prediction of cervical lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue/floor of the mouth. *Head Neck* 1995; 17: 463 - 472.
- [95] Ambrosh P., Kron M., Fisher G. Micrometastases in carcinoma of the upper aerodigestive tract: detection, risk of metastasizing, and prognostic value of depth of invasion. *Head Neck* 1995; 17: 473 - 479.
- [96] Arthur K., Farr H.W. Prognostic significance of histologic grade in epidermoid carcinoma of the mouth and pharynx. *Am. J. Surg.* 1972; 124: 489 - 492.
- [97] Shear M., Hawkins D.M., Farr H.W. The prediction of lymph node metastases from oral squamous carcinoma. *Cancer* 1976; 37: 1901 - 1907.
- [98] Langdon J.D., Harvey P.W., Rapidis A.D., Rapidis A.D., Patel M.F., Johnson N.W. Oral cancer: the behavior and response to treatment of 194 cases. *J. Maxillofac Surg.* 1997; 5: 221 - 237.

- [99] McGavran M.H., Bauer W.C., Ogura J.H. The incidence of cervical lymph node metastases from epidermoid carcinoma of the larynx and their relationship to certain characteristics of the primary tumor. *Cancer* 1961; 14: 55 - 66.
- [100] Markowski J., Gierek T., Pająk J., Zielińska – Pająk E., Witkowska M., Pasternak K., Wardas P., Podlejewski K. Ocena lokalizacji i wyników leczenia guzów ziarnisto-komórkowych region głowy i szyi. *Otolaryngologia* 2011; 10: 164 – 170.
- [101] Stell P.M. Prognosis in laryngeal carcinoma: tumor factors. *Clin. Otolaryngol.* 1989; 15: 69 - 81.
- [102] Pindborg J.J., Reichart P.A., Smith C.J., van der Waal I. World Health Organization histological typing of cancer and precancer of the mucosa. 2nd ed. Springer New York: 1997.
- [103] Poleksic S., Kalwaic H.J. Prognostic value of vascular invasion in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Plast. Reconstr. Surg.* 1978; 61: 234 – 240.
- [104] Sethi S., Lu M., Kapke A., Benninger M.S., Worsham M.J. Patient and tumor factors at diagnosis in a multi-ethnic primary head and neck squamous cell carcinoma cohort. *J. Surg. Oncol.* 2009; 99: 104 – 108.
- [105] Flynn C.J., Khaouam N., Gardner S., Higgins K., Enepekides D., Balogh J. et al. The value of periodic follow-up in the detection of recurrences after radical treatment in locally advanced head and neck cancer. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)* 2010; 22: 868–873.
- [106] Strojan P., Ferlito A., Langendijk J.A., Silver C.E. Indications for radiotherapy after neck dissection. *Head Neck* 2012; 34: 113 - 119.
- [107] Kurtz K.A., Hoffman H.T., Zimmerman M.B., Robinson R.A. Perineural and vascular invasion in oral cavity squamous carcinoma. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2005; 129: 354 – 359.
- [108] Kearsley J.H., Thomas S. Prognostic markers in cancers of the head and neck region. *Anticancer Drugs* 1993; 4: 419 – 429.

- [109] Genden E.M., Ferlito A., Bradley P.J., Rinaldo A., Scully C. Neck disease and distant metastases. *Oral Oncol.* 2003; 39: 207 – 212.
- [110] Slootweg P.J., Hordijk G.J., Schade Y., van Es R.J., Koole R. Treatment failure and margin status in head and neck cancer. A critical view on the potential value of molecular pathology. *Oral Oncol.* 2002; 38: 500 – 503.
- [111] Helliwell T.R. Molecular markers of metastasis in squamous carcinomas. *J. Pathol.* 2001; 194: 289 – 293.
- [112] Takes R.P., Baatenburg De Jong R.J., Alles M.J., Meeuwis C.A., Marres H.A., Knecht P.P., et al. Markers for nodal metastasis in head and neck squamous cancer. *Arch. of Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2002; 128: 512 – 518.
- [113] Genden E.M., Ferlito A., Silver C.E., Takes R.P., Suarez C., Owen R.P. et al. Contemporary management of cancer of the oral cavity. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2010; 267: 1001 – 1017.
- [114] Colella S., Richards K.L., Bachinski L.L., Baggerly K.A., Tsavachidis S., Lang J.C., et al. Molecular signatures of metastasis in head and neck cancer. *Head Neck* 2008; 30: 1273 – 1283.
- [115] Rao V.U., Shenoy A.M., Karthikeyan B. Role of angiogenetic markers to predict neck node metastasis in head and neck cancers. *J. Cancer Res. Ther.* 2010; 6: 142–147.
- [116] Ildstad S.T., Bigelow M.E., Remensnyder J.P. Squamous cell carcinoma of the tongue: a comparison of the anterior two-thirds with its base. *Am. J. Surg.* 1983; 146: 456- 461.
- [117] Woolgar J.A., Scott J., Vaughan E.D., Brown J.S., West C.R., Rogers S., Survival, metastasis and recurrence of oral cancer in relations to pathological features. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* 1995; 77: 325 – 331.
- [118] 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.